

Collection dirigée par
Jean-Claude Nicolas

Diarrhées infectieuses aiguës

Coordinateur
Rémy Teyssou



Diarrhées infectieuses aiguës



Méningites bactériennes communautaires
Coordinateur Édouard Bingen
ISBN : 2-84299-268-7

Hépatites virales entérotransmissibles
Coordinateur Élisabeth Nicand
ISBN : 2-84299-323-3

Infections virales et toxoplasmose maternofœtales
Coordinateurs Liliane Grangeot-Keros, François Audibert
ISBN : 2-84299-265-2

Infections virales respiratoires – tome 1
Grippe et infections virales des voies aériennes supérieures
Coordinateur François Freymuth
ISBN : 2-84299-266-0

Infections virales respiratoires – tome 2
Bronchopneumopathies virales
Coordinateur François Freymuth
ISBN : 2-84299-338-1

Mycoplasmes et chlamydiae
Coordinateur Christine Bébéar
ISBN : 2-84299-337-3

Diarrhées infectieuses aiguës
Coordinateur Rémy Teyssou
ISBN : 2-84299-336-5

Réalisation éditoriale : Nathalie Morellato, Gisela Tillier
Illustration de couverture : Gisela Tillier

Photocomposition et impression : Bialec, Nancy
Dépôt légal : 57095 - juin 2003

ISBN : 2-84299-336-5
ISSN : 1631-3623

Diarrhées infectieuses aiguës

Coordinateur
Rémy Teyssou



Collection dirigée par
Jean-Claude Nicolas



Auteurs

Antoine Andremont
Laboratoire de bactériologie, groupe hospitalier Bichat–Claude-Bernard, 46, rue Henri-Huchard, 75018 Paris

Frédéric Barbut
Unité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales (UHLIN), hôpital Saint-Antoine, 184, rue du faubourg Saint-Antoine, 75571 Paris cedex 12.

Fabienne Bon
Laboratoire de microbiologie médicale et moléculaire,
facultés de médecine et de pharmacie-CHU du Bocage,
77, boulevard Jeanne-d'Arc, 21079 Dijon cedex

Yves Buisson
HIA Val-de-Grâce, 74, boulevard Port-Royal, 75230 Paris cedex 05

Dominique Gendrel
Pédiatrie générale, groupe hospitalier Saint-Vincent-de-Paul–La Roche-Guyon, 74-82, avenue Denfert-Rochereau, 75674 Paris cedex 14

Marc Grandadam
Laboratoire de biologie clinique, HIA Val-de-Grâce,
74, boulevard Port-Royal, 75230 Paris cedex 05

Karine Grenet
Laboratoire de bactériologie, groupe hospitalier Bichat–Claude-Bernard, 46, rue Henri-Huchard, 75018 Paris

Alexandra Kerleguer
Service de biologie clinique, HIA Val de Grâce,
74, boulevard Port-Royal, 75230 Paris cedex 05

Jean-Louis Koeck
Laboratoire de biologie clinique, HIA Val-de-Grâce,
74, boulevard Port-Royal, 75230 Paris cedex 05

Évelyne Kohli
Laboratoire de microbiologie médicale et moléculaire,
facultés de médecine et de pharmacie–CHU du Bocage,
77, boulevard Jeanne-d'Arc, 21079 Dijon cedex

Philippe Lehours
Laboratoire de bactériologie,
Centre national de référence des Campylobacters et des Helicobacters, hôpital Pellegrin-Tripode, place Amélie-Raba-Léon, 33076 Bordeaux

Jérôme Maslin
Service de biologie clinique, HIA Val-de-Grâce,
74, boulevard Port-Royal, 75230 Paris cedex 05

Francis Mégraud
Laboratoire de bactériologie,
Centre national de référence des Campylobacters et des Helicobacters, hôpital Pellegrin-Tripode, place Amélie-Raba-Léon, 33076 Bordeaux

Marc Morillon
Laboratoire de biologie clinique, HIA Laveran, 13998 Marseille-Armées

Florence Moulin
Consultations pédiatriques, groupe hospitalier Saint-Vincent-de-Paul–La Roche-Guyon, 74-82, avenue Denfert-Rochereau, 75674 Paris cedex 14

Élisabeth Nicand
Laboratoire de biologie clinique, HIA Val-de-Grâce,
74, boulevard de Port-Royal, 75230 Paris cedex 05

Jacques-Yves Nizou
Laboratoire de biologie clinique, HIA Val-de-Grâce,
74, boulevard Port-Royal, 75230 Paris cedex 05

Jean-Claude Petit
Service de microbiologie, hôpital Saint-Antoine,
184, rue du faubourg Saint-Antoine, 75571 Paris cedex 12

Pierre Pothier
Laboratoire de microbiologie médicale et moléculaire,
facultés de médecine et de pharmacie – CHU du Bocage,
77, boulevard Jeanne-d'Arc, 21079 Dijon cedex

Rémy Teyssou
Aventis Pasteur, 2, avenue du Pont Pasteur, 69367 Lyon cedex 07

Sommaire

Éditorial

Rémy Teyssou

- Définitions et critères cliniques
- Diagnostic microbiologique

Les diarrhées infectieuses aiguës (DIA) comptent parmi les maladies les plus fréquentes dans le monde. Elles représentent la première cause de mortalité infantile dans les pays à faible niveau d'hygiène et sont à l'origine d'une morbidité majeure avant l'âge de 5 ans. La mortalité des DIA survient à 80 % dans les deux premières années de la vie et est liée à la déshydratation. Dans les pays non industrialisés, elle est aggravée par la malnutrition qui accroît le risque de décès par diarrhée.

Les DIA sont dues à des agents entéropathogènes bactériens, viraux ou parasitaires. Dans les pays à faible niveau d'hygiène, ce sont des maladies transmissibles liées au risque fécal. Leur incidence augmente avec l'absence d'équipements collectifs assurant l'alimentation des populations en eau potable, l'évacuation et le traitement des eaux usées. Leur transmission est favorisée par les conditions climatiques (chaleur, humidité) et par le manque d'hygiène. Les pays industrialisés ont acquis une certaine maîtrise du risque fécal, ce qui a permis un recul significatif des diarrhées infectieuses aiguës. Ainsi, la morbidité liée aux DIA avant l'âge de 5 ans est estimée aujourd'hui à 3,3 épisodes diarrhéiques par enfant et par an aux États-Unis, contre neuf dans les régions défavorisées. Cependant, aucun pays industrialisé n'a réussi à se débarrasser complètement de ce risque. Cette persistance reconnaît plusieurs causes :

– la diminution de l'immunité de groupe vis-à-vis des agents entéropathogènes a rendu les populations plus réceptives à l'infection, et favorise l'éclosion de foyers épidémiques dans des collectivités ou des familles ;

– le recours de plus en plus fréquent à la restauration collective et à la préparation différée des repas accroît les risques de contamination de la chaîne alimentaire et témoigne de l'incidence des toxi-infections alimentaires collectives ;

– les voyages de plus en plus courants vers des destinations exotiques représentent un autre facteur de risque pour des populations particulièrement réceptives chez lesquelles l'épisode diarrhéique se révèle sur place ou au retour. Le transport aérien est parfois plus rapide que la période d'incubation de l'infection.

Enfin, d'autres risques ont été individualisés, sans rapport direct avec le risque fécal, comme les diarrhées dues à *Clostridium difficile*, bactérie anaérobie impliquée dans plus de 20 % des diarrhées survenant après la prise d'antibiotiques.

1. Définitions et critères cliniques

La conférence de consensus des National Institutes of Health définissait en 1986 une diarrhée comme étant : « l'émission de plus de deux fois le nombre de selles habituelles quotidiennes ». D'autres définitions plus récentes retiennent « l'émission d'au moins trois selles non formées sur une période de 24 heures, associée au moins à l'un des symptômes suivants : nausée, vomissements, fièvre, douleurs abdominales, ténesme, selle impérieuse, émission de sang ou de mucus ». Des modifications ont été apportées en fonction de nécessités épidémiologiques : « émission de quatre selles non moulées sur une

période de 24 heures » ou « de trois selles non moulées sur une période de 8 heures avec présence d'au moins un des signes cités plus haut ». La multiplication de ces propositions témoigne de la difficulté d'obtenir une définition précise du syndrome diarrhéique, utilisable à la fois en clinique mais aussi dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques.

Dans la pratique, on distingue trois grands syndromes diarrhéiques qui correspondent à des mécanismes physiopathologiques distincts : la diarrhée aiguë hydrique, la gastro-entérite aiguë fébrile et le syndrome dysentérique.

La diarrhée aiguë hydrique est la présentation clinique la plus fréquente. Elle se caractérise par un début soudain et des symptômes modérés et transitoires. Sans traitement, la plupart des épisodes ne durent que quelques jours (médiane 2 j). Les signes associés sont : anorexie, nausées, vomissements, douleurs abdominales, ballonnements, flatulences. La fièvre est en général absente. Le principal facteur de gravité est la déshydratation, particulièrement chez les enfants et les personnes âgées. Dans sa forme la plus grave, elle se traduit par le syndrome cholériforme. Elle est généralement due à des agents non invasifs produisant une toxine in vivo comme *Escherichia coli* entérotoxinogène ou *Vibrio cholerae* O:1. Elle peut également révéler une infection à *Rotavirus*, *Salmonella enterica* ou *Cryptosporidia*. Enfin, elle peut être liée à une intoxination. On trouvera alors au premier plan les signes associés (nausées, vomissements et malaise) ; c'est le cas des toxines préformées dans les aliments, produites par *Staphylococcus aureus* ou par *Bacillus cereus*.

La gastro-entérite aiguë fébrile oriente plutôt vers un agent entéro-invasif, comme *Salmonella enterica*, *Shigella* spp., *Campylobacter jejuni* ou *Rotavirus*.

Le syndrome dysentérique représente moins de 10 % des diarrhées infectieuses aiguës. L'émission de selles molles, de petit volume, accompagnées de mucus, de glaires et de sang, est typique des microorganismes infectant l'extrémité distale du grêle et du côlon, responsables de lésions inflammatoires et/ou invasives. Il peut exister des prodromes de types céphalées, myalgies et malaise général. L'infection peut débuter par un tableau de gastro-entérite aiguë. La diarrhée est en règle générale accompagnée de douleurs abdominales, d'épreintes, de ténesme et de fièvre. Les principaux agents en cause sont des bactéries entéro-invasives comme *Shigella* spp., *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterolitica*. Il peut également s'agir d'une diarrhée parasitaire due à *Entamoeba histolytica* ou *Shistosoma mansoni*.

À côté de ces trois grands cadres cliniques, les diarrhées hémorragiques représentent un tableau à part. Elles sont peu fréquentes, dues à des agents pathogènes spécifiques et surviennent dans des contextes particuliers.

2. Diagnostic microbiologique

Même dans les pays industrialisés, le recours au laboratoire pour le diagnostic d'une diarrhée infectieuse aiguë reste la plupart du temps une pratique inhabituelle, en dehors de cas particuliers liés à la gravité de l'infection (diarrhée hémorragique due à *E. coli* entérohémorragique, diarrhée due à *Clostridium difficile*), au contexte épidémiologique (toxi-infection alimentaire collective, diarrhée nosocomiale, diarrhée au retour d'outre-mer), au terrain

(immunodépression, infection par le VIH) ou à la persistance de la diarrhée. Cette attitude s'explique d'une part, par la bénignité habituelle des épisodes diarrhéiques qui rétrocèdent le plus souvent en 48 h et d'autre part, par le faible rendement des examens de laboratoire effectués en routine. En effet, au moins 60 % des examens de selles effectués en routine aboutissent à une réponse négative. Ces faibles performances ont des causes multiples : prélèvements trop tardifs, prise préalable de traitements anti-infectieux, délais trop longs entre l'émission des selles et la réalisation de l'analyse, conditions de transport inadaptées, absence d'orientation clinique. Ce dernier point mérite d'être souligné, car en l'absence de renseignements cliniques, le biologiste réalise une coproculture standard qui consiste en la recherche de *S. enterica*, de *Shigella* spp., de *Campylobacter* spp. ou de *Y. enterolitica*. La recherche d'autres agents entériques tels que *Vibrio* spp., *Clostridium* spp., pathotypes d'*E. coli* ou de toxines bactériennes, nécessite une prescription explicite. Par ailleurs, tous les laboratoires ne disposent pas des techniques nécessaires à l'identification des *Vibrio*, des pathotypes d'*E. coli* ou des virus. Pourtant, le diagnostic étiologique d'une diarrhée infectieuse aiguë apporte de nombreuses informations concernant l'indication d'un traitement médicamenteux éventuel (antibiotiques, traitement antiparasitaire) et l'épidémiologie (fréquence des différents agents pathogènes, résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées).

L'objectif de cet ouvrage est de réactualiser l'intérêt du diagnostic étiologique des diarrhées infectieuses aiguës, en rappelant aux cliniciens les techniques actuellement disponibles pour la mise en évidence des microorganismes ainsi que leur niveau de spécialisation, et en proposant aux microbiologistes un outil d'orientation diagnostique en fonction de critères épidémiologiques et cliniques.

Orientation épidémiologique et clinique d'une diarrhée infectieuse aiguë

Karine Grenet, Antoine Andremont



La plupart des diarrhées aiguës sont de nature infectieuse, bactérienne, virale, parasitaire ou plus rarement fongique. Un interrogatoire minutieux et l'examen clinique permettent d'orienter les éventuelles explorations ultérieures, et d'écarter les causes non infectieuses de diarrhée aiguë.
Toute diarrhée aiguë ne nécessite pas la mise en œuvre d'examens complémentaires. En revanche, dans certains cas, l'indication de l'examen de selles est impérative. Il s'agit des diarrhées présentant un risque immédiat pour le patient, comme celles survenant sur un terrain à risque (immunodéprimés, personnes très âgées, nourrissons), des diarrhées sévères (syndrome septicémique et/ou déshydratation majeure), des diarrhées hémorragiques témoignant d'une iléocolite sous-jacente, des diarrhées au retour d'outre-mer et des diarrhées persistantes, c'est-à-dire se prolongeant au-delà de 3 j malgré un traitement symptomatique.
L'orientation clinique et épidémiologique est donc un temps clé du diagnostic étiologique, car elle permet au microbiologiste de mettre en place des techniques standard et complémentaires, adaptées au contexte.

1. Orientation initiale du diagnostic en fonction du contexte

Il est possible d'identifier par l'interrogatoire plusieurs contextes épidémio-cliniques qui vont permettre d'orienter les examens à mettre en œuvre.

1.1. Notion de voyage récent en pays tropical

Le voyage dans les régions tropicales à faible niveau d'hygiène représente un facteur de risque de survenue de diarrhée infectieuse aiguë. L'épisode diarrhéique survient le plus souvent dans la première semaine du voyage et, dans la plupart des cas, il évolue spontanément vers la guérison en moins de 7 j. C'est le cas de la classique « tourista » du voyageur. La diarrhée peut également survenir au retour en métropole.
Les diarrhées du voyageur sont principalement d'origine bactérienne (*tableau 1*). *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* et *Shigella* sp. sont les espèces les plus fréquemment isolées. Les autres espèces, comme *Campylobacter* sp.

Tableau 1. Étiologies les plus fréquentes au cours d'une diarrhée au retour d'un voyage récent en zone intertropicale.

Bactéries (70 à 80 %)	Parasites (5 à 10 %)	Virus (10 à 20 %)
Escherichia coli entérotoxinogène (40 %)	*Giarda lamblia*	*Rotavirus*
Salmonella enterica (15 %)	*Entamoeba histolytica*	Agent de Norwalk
Escherichia coli entéro-invasif	*Cryptosporidium parvum*	*Astrovirus*
Shigella spp.	*Cyclospora cayetanensis*	
Campylobacter jejuni	*Shistosoma mansoni*	

Vibrio sp., *Aeromonas* sp., *Pleisiomonas shigelloides* sont plus rares. La diarrhée fébrile est un des signes de l'accès dû à *Plasmodium falciparum*. Il s'agit alors d'une urgence vitale et ce diagnostic devra être systématiquement évoqué devant tout tableau de gastro-entérite fébrile.
Le lieu du séjour donne peu d'informations. Les salmonelles sont ubiquitaires : *Aeromonas* sp. est plus fréquemment isolé au retour d'Asie. Les zones d'endémie de *Vibrio cholerae* O:1 (ou O:139) sont en revanche bien connues. Il existe des variations saisonnières : *Shigella* sp. et *Salmonella enterica* sont plus souvent isolées pendant la saison des pluies, *Campylobacter jejuni* pendant la saison sèche.
Une cause parasitaire est mise en évidence dans 5 à 10 % des cas. Les diarrhées aiguës d'origine virale sont principalement dues aux *Rotavirus, Astrovirus* et à l'agent de Norwalk qui sont des agents ubiquitaires.

1.2. Traitement antibiotique

La prise d'antibiotiques, notamment par voie orale, est souvent suivie de modifications de la consistance et/ou de la fréquence des selles. Le mécanisme à l'origine de ces symptômes n'est pas entièrement élucidé. Les effets des antibiotiques sur la flore colique entraînent probablement une perturbation des antagonismes microbiens, présents chez les sujets normaux, permettant la prolifération de microorganismes potentiellement pathogènes comme *Clostridium difficile*.
La recherche de toxines de *C. difficile* est indiquée en cas de diarrhée nosocomiale ou de diarrhée persistante et/ou hémorragique, apparue au cours d'un traitement antibiotique ou antimitotique, ou dans les 2 mois suivant celui-ci.
La recherche d'une autre bactérie, *Klebsiella oxytoca*, est indiquée en cas de diarrhée hémorragique postantibiotique.

1.3. Malades immunodéprimés

Les microorganismes isolés au cours d'une diarrhée aiguë chez des sujets immunodéprimés, et notamment chez les patients atteints de sida, peuvent être des agents pathogènes non spécifiques, habituellement isolés de diarrhée infectieuse aiguë, auxquels ces malades sont particulièrement sensibles, mais aussi des agents opportunistes plus spécifiques *(tableau 2)*.

1.4. Toxi-infection alimentaire collective

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) surviennent brutalement et sont toujours liées à des fautes d'hygiène dans la chaîne alimentaire. La recherche de l'agent pathogène, et/ou de sa toxine, doit être réalisée à partir des selles, des vomissements et des aliments composant le plat suspect, lorsqu'ils sont disponibles. Les TIAC sont essentiellement d'origine bactérienne. De nombreuses espèces peuvent être impliquées et le diagnostic étiologique doit prendre en compte au minimum les salmonelles, les shigelles, *Bacillus cereus, Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus*. D'autres espèces peuvent être plus rarement impliquées : *Vibrio parahaemolyticus* (germe des eaux

Tableau 2. Agents pathogènes à rechercher de façon systématique devant un tableau de diarrhée chez un malade immunodéprimé.

Microorganismes			
Bactéries	Virus	Parasites	Champignons
Salmonelles	*Cytomegalovirus*	*Cryptosporidium parvum*	*Cryptococcus neoformans*
Shigelles	Herpès	*Microsporidium* spp.	*Histoplasma capsulatum*
Yersinia spp.		*Isospora belli*	
Campylobacter spp.		*Giardia*	
Clostridium difficile		*Entamoeba histolytica*	
Mycobacterium tuberculosis		*Strongyloides stercoralis*	
Mycobacterium avium-intracellulare			

salées responsable de TIAC en Extrême-Orient et aux États-Unis), *Aeromonas hydrophila* (germe des eaux non traitées de source ou de puits) et *Pleisiomonas shigelloides* (bactérie des eaux tropicales et subtropicales).

1.5. Collectivité de nouveau-nés et de nourrissons

Des épidémies peuvent également avoir lieu dans les crèches et les pouponnières. Les causes infectieuses les plus fréquentes sont : *Salmonella enterica*, *Shigella* spp., *E. coli* entéropathogène, *Campylobacter*, *Giardia*, rotavirus.

1.6. Épidémie dans une collectivité

La notion d'épidémie, chez les enfants d'âge scolaire et les adultes dans une communauté, suggère le plus souvent une étiologie virale. La diarrhée ne dure que 24 h, s'associe à des douleurs abdominales et à des vomissements, et s'accompagne parfois de fièvre, d'anorexie et de myalgies. Les principaux virus isolés dans ce cadre sont les rotavirus, adenovirus, astrovirus, calicivirus et coronavirus.

2. Tableaux cliniques

La présentation clinique peut également orienter la démarche diagnostique. Ainsi, la séquence des événements cliniques permet d'évoquer un agent pathogène particulier. C'est le cas par exemple des diarrhées dues à *E. coli* O157:H7 qui apparaissent 3 j après l'ingestion de l'aliment contaminant, et qui deviennent hémorragiques le deuxième ou le troisième jour de l'évolution.

Dans tous les cas, l'examen clinique doit se concentrer sur les points suivants :

– le type de diarrhée (aqueuse, dysentérique, voire hémorragique) ;

– la présence ou non de fièvre ;

– l'existence de signes de gravité (déshydratation) ;

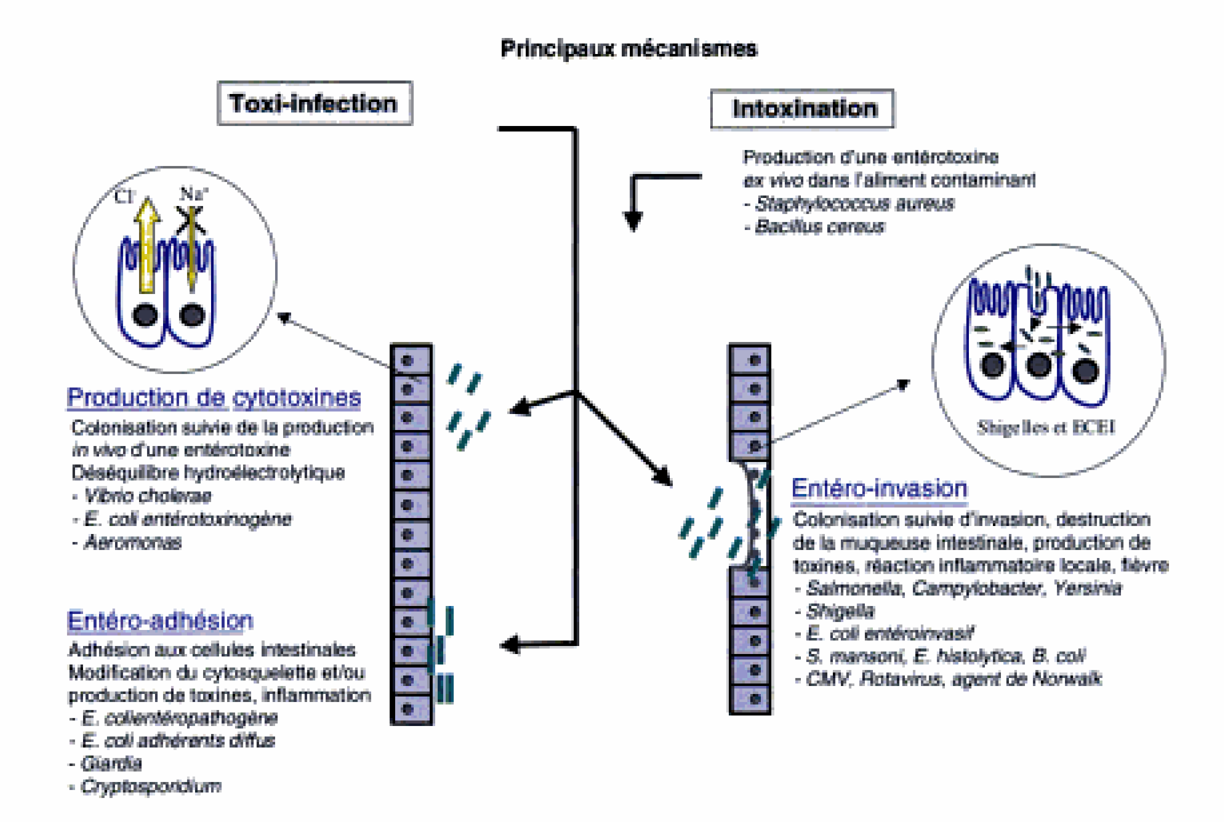


Figure 1. Physiopathologie des diarrhées infectieuses aiguës.

– l'existence de signes extra-intestinaux (érythème noueux, arthrite réactionnelle, troubles neurologiques).

Dans la pratique, on distingue trois tableaux cliniques : la diarrhée aiguë hydrique, la gastro-entérite aiguë fébrile et le syndrome dysentérique. Ces tableaux cliniques témoignent de mécanismes physiopathologiques complexes, dont deux sont particulièrement importants (*figure 1*) :

– l'agent pathogène peut rester dans la lumière intestinale et agir par l'intermédiaire de toxines responsables d'une diarrhée hydrique ;

– l'agent pathogène peut se multiplier et pénétrer dans la muqueuse digestive, entraînant une diarrhée de type invasif, caractérisée sur le plan clinique par une gastro-entérite fébrile ou un syndrome dysentérique.

2.1. Diarrhée aiguë hydrique

Il s'agit d'une diarrhée profuse, aqueuse et incolore. Elle s'accompagne d'anorexie, de nausées, de vomissements, de douleurs abdominales, de ballonnements et de flatulences. La fièvre est en général absente. Dans sa forme la plus sévère, elle réalise le syndrome cholériforme : diarrhée « eau de riz », afécale, profuse, accompagnée de vomissements. La gravité des diarrhées hydriques est liée au risque de déshydratation qui est majeur dans le syndrome cholériforme.

Les selles ne contiennent ni sang ni leucocytes, et la muqueuse digestive reste intacte. Ce syndrome est provoqué par des agents infectieux agissant par

Tableau 3. Principales bactéries responsables d'un syndrome cholériforme.

Bactérie	Distribution géographique	Fréquence en France	Incubation	Aspects épidémiologiques
Vibrio cholerae	Asie, Afrique, Amérique latine	Exceptionnel Jamais autochtones (voyageurs)	Quelques h à 7 j	8ᵉ pandémie
Clostridium perfringens	Cosmopolite	Fréquent	2–24 h	Agent de TIAC
Bacillus cereus	Cosmopolite	Rare	1–6 h	Agent de TIAC
Staphylococcus aureus	Cosmopolite	Fréquent	1–6 h	Agent de TIAC
ECET*	Cosmopolite, mais fréquent dans les pays à faible niveau d'hygiène	Voyageurs	12–72 h	Agent de TIAC
ECEP**	Cosmopolite	Épidémies décrites dans les années 1950, exceptionnelles aujourd'hui	24–48 h	Enfants < 2 ans

* ECET : *Escherichia coli* entérotoxinogène ; ** ECEP : *Escherichia coli* entéropathogène.

l'intermédiaire d'une entérotoxine. Les toxines sécrétées stimulent la sortie d'eau et d'électrolytes par les entérocytes vers la lumière intestinale. Il y a peu ou pas de fièvre. Le type en est le choléra clinique dû à *Vibrio cholerae* O:1 (ou O:129) et *Escherichia coli* entérotoxinogène. Mais d'autres agents peuvent en être responsables, la plupart du temps à un degré de gravité moindre. Ce sont des bactéries dans la majorité des cas *(tableau 3)*, parfois des virus (rotavirus), voire des parasites (*Cryptosporidium* sp.).

2.2. Syndrome dysentérique

Les selles sont glaireuses, mucosanglantes, parfois purulentes et accompagnées de douleurs abdominales importantes. La déshydratation est rare. Ce sont des diarrhées dites « invasives », où l'agent infectieux agit par invasion de la muqueuse colique. La destruction de la muqueuse entraîne des ulcérations responsables du caractère mucopurulent ou sanglant des selles. Les perforations digestives à l'origine d'hémorragies sont toutefois rares. La réaction inflammatoire se traduit par un afflux de leucocytes qui pourront être détectés dans les selles par un frottis coloré. Le type de la dysenterie est, soit bacillaire dû à *S. dysenteriae* ou à *E. coli* entéro-invasif, soit parasitaire dû à *Entamoeba histolytica* ou *Shistosoma mansoni*.

2.3. Gastro-entérite fébrile

Les gastro-entérites aiguës fébriles orientent également vers un agent entéro-invasif. Tous les agents pathogènes à l'origine de syndromes dysentériques peuvent être responsables de gastro-entérites fébriles. On trouve également

Tableau 4. Principales bactéries isolées des selles au cours de syndrome dysentérique et/ou de gastro-entérites fébriles.

Bactéries	Répartition géographique	Fréquence en France	Mode de contamination	Incubation	Aspects épidémiologiques et/ou cliniques
Shigella sp.	Cosmopolite	Voyageurs Cas autochtones	Féco-orale	24–72 h	Risque de SHU* TIAC
Salmonella enterica non typhoïdiques	Cosmopolite	Très fréquent	Oeufs, volailles, laitages	6–48 h	Principal agent de TIAC
Campylobacter spp.	Cosmopolite	Sous-estimée	Volailles, lait, eau	2–10 j	Arthrite postinfectieuse, syndrome de Guillain-Barré
Yersinia enterolitica	Régions septentrionales	Fréquent	Laitages, produits surgelés, viandes	2–14 j	Érythème noueux, arthrite, sd pseudo-app**
Vibrio parahaemolyticus	Asie, États-Unis	Rare	Poissons crus, coquillages, crustacés	6–20 h	Agent de TIAC
ECEI	Cosmopolite	Voyageurs	Féco-orale	8–72 h	
ECEH	Pays industrialisés	Inconnue	Viandes insuffisamment cuites	3–4 j	Risque de SHU*
Clostridium difficile	Cosmopolite	Fréquent	Facteur favorisant : prise d'antibiotiques	3–10 j après le début des antibiotiques	

*SHU : Syndrome hémolytique et urémique, **sd pseudo-app : syndrome pseudo-appendiculaire ;
ECEI : *Escherichia coli* entéro-invasif ; ECEH : *Escherichia coli* entérohémorragique.

Salmonella enterica, Clostridium difficile, Campylobacter jejuni, Yersinia, certains *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp. et *E. coli* entérohémorragique *(tableau 4)*, ou des agents viraux comme les rotavirus.

3. L'essentiel

La démarche diagnostique devant une diarrhée infectieuse aiguë est décrite dans la *figure 2*. Seule une partie des diarrhées aiguës vues par un médecin justifie la pratique d'examens microbiologiques complémentaires qui doivent alors être prescrits avec discernement en fonction des contextes cliniques et épidémiologiques.

L'interrogatoire est primordial lors de la prise en charge médicale d'une diarrhée. Il doit notamment aborder les points suivants : séjour récent en pays tropical, prise médicamenteuse récente, immunodépression, conduites alimentaires à risque.

Diarrhée hydrique de l'adulte

Discuter l'intérêt de l'examen de selles, qui ne doit être effectué que dans certains contextes épidémiologiques ou cliniques :

- Retour d'outre-mer (culture *V. cholerae* et autres *Vibrionaceae*, recherche d'ECET)
- Diarrhée persistante (> 3 jours)
- Recherche de virus dans les selles : cas groupés

Gastro-entérite fébrile de l'adulte

- Coproculture standard
- Examen parasitologique des selles
- Si retour d'outre-mer : diagnostic du paludisme, sérologie de la bilharziose
- Hémocultures en cas de signes de gravité, de suspicion de fièvre typhoïde
- Si résultats négatifs : coloscopie courte avec biopsies, recherche des pathotypes *E. coli* et des *Vibrionaceae*, recherche de virus

Syndrome dysentérique de l'adulte

- Coproculture standard
- Recherche spécifique d'ECEI
- Examen parasitologique des selles (*E. histolytica*, *Shistosoma*)
- Sérologie bilharziose
- Si résultats négatifs : coloscopie courte avec biopsies

Diarrhée infectieuse aiguë chez l'enfant de moins de 2 ans

Recherche de signes de gravité (urgence thérapeutique)

- Coproculture standard
- Examen parasitologique des selles
- Recherche de virus (*rotavirus*)
- En cas de SHU et/ou de présence de sang dans les selles, recherche spécifique d'ECEH

Diarrhée chez un immunodéprimé

- Coproculture standard
- Examen parasitologique des selles
- Recherche de cryptosporidies et microsporidies, *Isospora*
- Recherche de mycobactéries
- Recherche de levures
- Recherche de cytomégaloviens
- Si résultats négatifs : coloscopie courte avec biopsies
- Hémocultures en cas de signe(s) de gravité

Figure 2. Démarche diagnostique devant une diarrhée infectieuse aiguë (en dehors des TIAC et des diarrhées postantibiotiques).

La grande diversité des étiologies impose de fournir au biologiste les informations indispensables, afin de mettre en œuvre les techniques diagnostiques appropriées.

4. Conclusion

Le contexte épidémioclinique permet, le plus souvent, d'orienter le diagnostic et de mettre en œuvre la thérapeutique appropriée. La mise en évidence de l'agent étiologique est souvent limitée par de nombreux facteurs : multiplicité des causes, imputabilité incertaine des germes découverts, difficultés diagnostiques.

5. Pour en savoir plus

Bartlett JG. Antibiotic-associated diarrhea. Clin Infect Dis 1992 ; 15 : 573-81.

Beaugerie L. Stratégies d'exploration des diarrhées aiguës. Lettre de l'Infectiologue 2000 ; 15 : 386-90.

Beaugerie L, Yazdanpanah Y. Diarrhées aiguës et syndromes dysentériques. In : Traité de gastroentérologie. Paris : Flammarion Médecine-Science 2000 : 121-36.

Bouchaud O, Cabié A, Coulaud JP. Épidémiologie, physiopathologie et traitement de la diarrhée du voyageur. Ann Med Interne 1995 ; 146 : 431-7.

Brazier JS. Diagnosis of *Clostridium difficile*-associated disease. J Antimicrob Chemother 1998 ; 41 (suppl. C) : 29-40.

Fantry L. Gastro-intestinal infections in the immunocompromised host. Curr Opin Gastro-enterol 2000 ; 16 : 45-50.

Guerrant RL, et al. How intestinal bacteria cause disease. J Infect Dis 1999 ; 179 : S331-S7.

Meads PS, Griffin PM. *Escherichia coli* O157 : H7. Lancet 1998 ; 352 : 1207-12.

Analyse bactériologique des selles pour le diagnostic des diarrhées infectieuses aiguës

Jacques-Yves Nizou

- Indications
- Références de la nomenclature
- Stratégie au laboratoire
- Prélèvement
- Mode opératoire
- Résultats
- Pour en savoir plus



Pour ceux qui la pratiquent régulièrement, la coproculture n'est pas toujours contributive. On reçoit beaucoup de selles pâteuses ou liquides, mais on a toujours l'impression d'isoler relativement peu de souches pathogènes. L'analyse bactériologique des selles reste cependant un examen clé du diagnostic des diarrhées aiguës d'origine infectieuse. Ces dernières représentent les étiologies les plus préoccupantes des diarrhées et celles accessibles à un traitement efficace, même si la plupart guérissent spontanément sous nos climats. De nombreuses autres causes de diarrhée sont possibles ; leur fréquence est alors étroitement liée au contexte épidémiologique ou clinique.
Le rôle du bactériologiste doit tenir compte de cette diversité. Il commence par une étude de la demande à partir des renseignements cliniques et épidémiologiques, puis par une orientation éclairée des analyses : certaines seront systématiquement réalisées, d'autres ne seront pratiquées que s'il existe des signes évocateurs, parfois seulement révélés par l'examen direct à l'état frais, ce qui souligne ici son importance. Cette démarche augmente la fiabilité et les performances de la coproculture.

1. Indications

L'indication d'une demande d'analyse bactériologique des selles varie considérablement selon l'expérience du prescripteur et selon l'attente du patient. Citons parmi les principales indications :
– la recherche d'agents pathogènes bactériens ou viraux dans le cadre d'une diarrhée d'allure infectieuse ;
– la recherche d'agents pathogènes, après survenue de cas groupés ;
– la recherche de *Clostridium difficile* si la diarrhée survient après traitement antibiotique ;
– l'examen systématique annuel pour le personnel des services de restauration ou de l'industrie agro-alimentaire ;
– la recherche ciblée de bactéries multirésistantes, productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les patients hospitalisés dans les services à risque de dissémination.

2. Références de la nomenclature

Selon la *Nomenclature des actes de biologie médicale*, l'analyse bactériologique des matières fécales ou d'un prélèvement rectal (référence n° 5207, cotation B 180) comprend :
– l'examen microscopique d'orientation direct et après colorations adaptées ;
– l'identification des diverses espèces bactériennes après culture systématique (si nécessaire, après enrichissement) ;
– l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de toutes les espèces susceptibles d'engendrer un processus infectieux.

L'examen comprend le cas échéant :
– la recherche d'adenovirus et rotavirus par technique immunologique, la culture en vue d'isoler et d'identifier *Campylobacter* et *Yersinia* ;
– la recherche étendue à d'autres agents d'entérites nécessitant une prescription explicite ; par exemple, seront concernés *Vibrio, Clostridium*, divers pathotypes d'*Escherichia coli* ou des toxines microbiennes ;
– le dénombrement des diverses espèces bactériennes effectué sur prescription et pour les cas particuliers.

3. Stratégie au laboratoire

La stratégie découle des indications et des exigences de la nomenclature figurant ci-dessus. Le but premier de la coproculture étant d'isoler *Salmonella* et *Shigella*, la stratégie est d'ensemencer au minimum les trois milieux suivants :
– un milieu sélectif pour *Salmonella* et *Shigella* ;
– un milieu d'enrichissement favorisant leur isolement aux dépens des autres entérobactéries ;
– un milieu non sélectif pour évaluer la flore fécale aérobie dans son ensemble ou limitée aux entérobactéries.
En fonction de la prescription, de l'aspect macroscopique et microscopique de la selle ou du contexte épidémiologique, on ajoutera un ou plusieurs milieux sélectifs pour la recherche de :
– *Campylobacter jejuni*, qui doit être systématique chez l'enfant présentant une diarrhée aqueuse prolongée, chez les patients immunodéprimés, ou lorsque l'examen direct a mis en évidence des bactéries mobiles « en vol de moucheron ». Insuffisamment recherché, il représenterait une cause non négligeable de gastro-entérites en France. L'isolement est réalisé sur milieu sélectif de type Karmali, Butzler ou Skirrow ;
– *Yersinia enterocolitica* et plus rarement *Yersinia pseudotuberculosis*, s'il s'agit d'une gastro-entérite de l'enfant de moins de 6 ans, ou d'un tableau d'arthrite réactionnelle. L'isolement est réalisé sur milieu sélectif CIN (cefsulodine–irgasan–novobiocine).
Sur orientation ou prescription explicite uniquement, on recherchera :
– *Clostridium difficile* : en associant à la culture, parfois peu sensible, la recherche d'une production de toxines par test Elisa, de préférence unitaire et par technique rapide, ce qui réduit le délai de réponse au clinicien. (Les performances des tests rapides de dernière génération sont comparables à celles des trousses Elisa classiques.) Cependant, en milieu hospitalier, il semble légitime de rechercher systématiquement la présence de *Clostridium difficile* sur selles liquides, pour les patients des services à risque (réanimation, médecine, maladies infectieuses, hématologie, oncologie), y compris en l'absence de renseignements cliniques ;
– *Vibrio* et *Aeromonas* : si le contexte clinique ou épidémiologique est évocateur ; syndrome cholériforme, diarrhée aqueuse au retour d'outre-mer. Ils seront isolés sur milieu sélectif ;

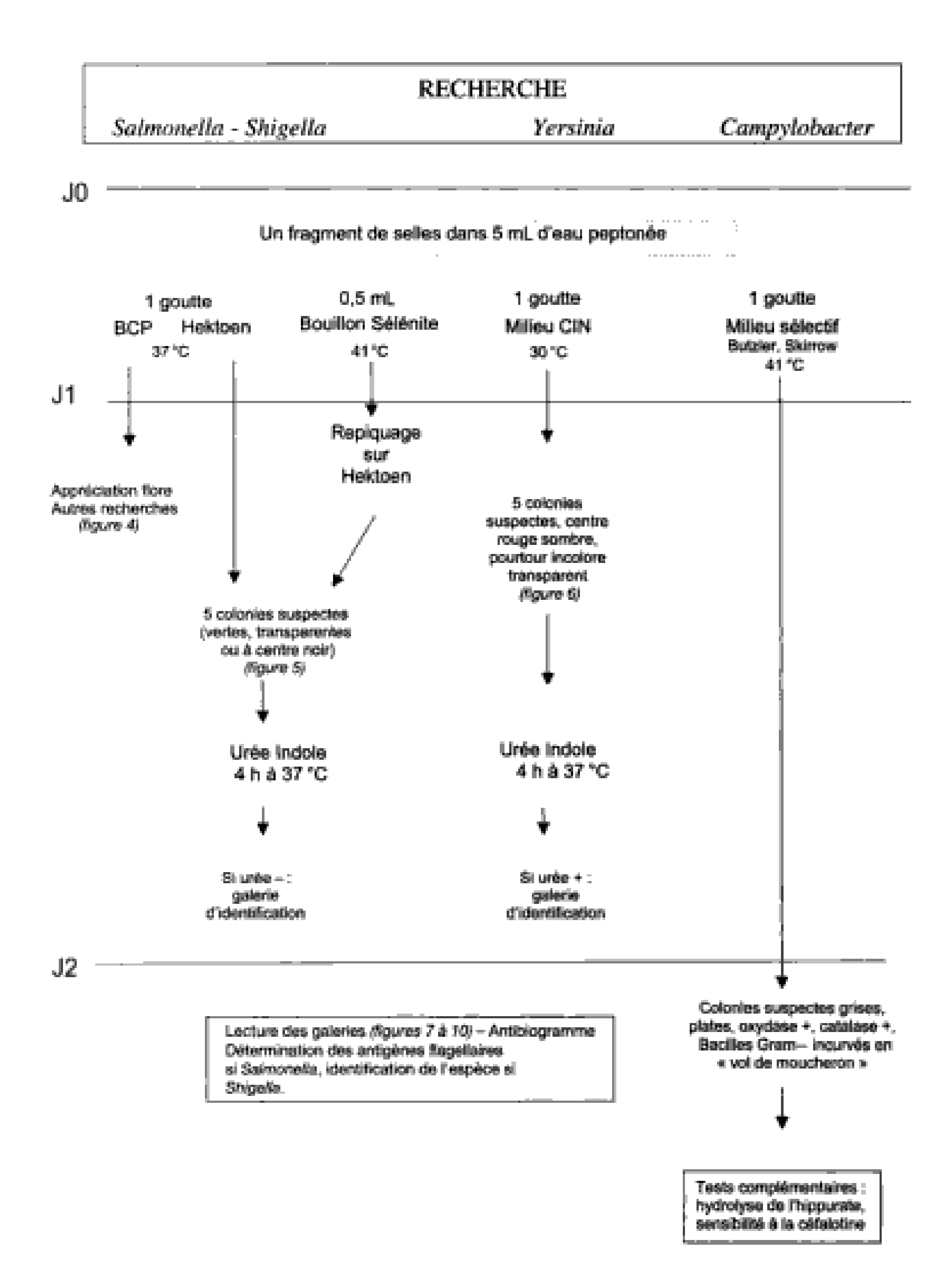


Figure 1. Stratégies de mise en évidence des bactéries entéropathogènes dans les selles.

– *Escherichia coli* entéropathogène : rarement réalisée en dehors des laboratoires spécialisés, cette demande concerne principalement les jeunes enfants vivant en collectivité. L'utilisation d'une gélose lactosée type bromocrésol pourpre (BCP), permet la mise en évidence des colonies suspectes. Le caractère entéropathogène de la souche est recherché secondairement, soit à l'aide de sérums agglutinants spécifiques, soit par les techniques de biologie moléculaire.

En milieu hospitalier, il est parfois utile de rechercher une colonisation du patient :

– par *Staphylococcus aureus* sur milieu de Chapman ou milieu de Baird-Parker ;

– par *Pseudomonas aeruginosa* sur gélose au cétrimide. Concernant le dépistage des porteurs de bactéries multirésistantes, on utilise deux géloses Drigalski : la première, non modifiée, sert de témoin de pousse ; la seconde, contenant 2 mg/L de ceftazidime, met en évidence les souches d'entérobactéries productrices de BLSE.

L'examen systématique des selles pour le personnel des services de restauration est limité à la recherche de portage de *Salmonella* et *Shigella*.

3.1. Choix des milieux pour l'isolement de *Salmonella* et *Shigella*

3.1.1. Milieux sélectifs

La gélose Hektoen représente le milieu sélectif le mieux adapté et le plus utilisé. Cette gélose contient des sels biliaires qui évitent l'envahissement des cultures par *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris*, et des antiseptiques qui inhibent la croissance des bactéries autres que *Salmonella* et *Shigella*. Elle présente des performances d'isolement comparables pour ces deux espèces. Elle différencie les espèces fermentant le lactose : colonies jaunes (*E. coli, Klebsiella, Enterobacter*) des autres espèces de lactoses négatives (*Salmonella, Shigella, Proteus, Providencia, Hafnia, Citrobacter, Serratia, Pseudomonas, Alcaligenes*), et détecte la production d'H_2S ce qui permet une bonne discrimination des colonies de *Salmonella* par rapport au reste de la flore *(figure 2)*. Les milieux DCL ou DCLS (désoxycholate–citrate–lactose–saccharose) et le milieu S.–S., (*Salmonella–Shigella*) sont également utilisés, mais moins discriminants. Le milieu XLD (xylose–désoxycholate) possède une sensibilité égale au milieu Hektoen et une spécificité supérieure. L'utilisation de substrats chromogènes révélant la présence de *Salmonella* augmente la sensibilité, avec parfois un risque de faux positifs ou de faux négatifs. Il est donc recommandé de les utiliser comme milieu d'isolement après enrichissement (exemple : sur milieu SM-ID®, présence de colonies rouges de *Salmonella* et de colonies vertes de coliformes dues à la fermentation du glucuronate et à l'absence de bêta-galactosidase).

3.1.2. Milieux non sélectifs

La gélose BCP est un milieu non sélectif *(figure 3)*. La gélose Drigalski est un milieu moyennement sélectif (les Gram positif sont inhibés par le cristal violet).

3.1.3. Milieux liquides sélectifs pour enrichissement

Le bouillon sélénite–cystine, ou plus rarement le milieu de Muller-Kauffmann au tetrathionate–vert brillant–sels biliaires (ce milieu ne doit pas être utilisé pour la recherche de *Salmonella typhi*), sont les milieux liquides utilisés pour l'enrichissement. On les repique après 6 h ou 24 h d'incubation à 37 °C ou 41 °C sur un milieu sélectif.



Figure 2. Gélose Hektoen illustrant la difficulté de l'examen bactériologique des selles : quelles colonies doivent être étudiées ?



Figure 3. Gélose BCP avec une flore bactérienne polymorphe faite de colonies lactose négatives (qui devront être testées) et lactose positives (jaunes).



Figure 4. *Shigella flexneri* sur gélose BCP. Les colonies apparaissent lactose –, au milieu d'autres colonies lactose + plus grandes (*E. coli*).



Figure 5. *Salmonella enterica* H2S+ sur gélose Hektoen (centre noir).



Figure 6. *Yersinia pseudotuberculosis* sur milieu CIN.



Figure 7. *Salmonella enterica*. Galerie Api20E®.



Figure 8. *Shigella sonnei*. Galerie Api20E®.



Figure 9. *Shigella flexneri*. Galerie Api20E®.



Figure 10. *Yersinia pseudotuberculosis*. Galerie Api20E®.

4. Prélèvement

La qualité du prélèvement de selles est déterminante pour l'obtention de résultats fiables. Le recueil est habituellement assuré par le patient lui-même, lorsqu'il est valide, et si possible au laboratoire qui devra disposer de toilettes à cuvette aménagée pour faciliter le prélèvement d'une grosse noix de selle. Il est utile de préciser au patient qu'il faut transvaser en priorité, les fragments contenant des glaires, du mucus ou du sang, réputés plus informatifs. Les renseignements cliniques indispensables peuvent figurer sur un questionnaire rempli avant le prélèvement par le patient ou par un professionnel de santé.

Chez le nouveau-né ou le nourrisson, on réalise au besoin un écouvillonnage rectal.

4.1. Choix du récipient

Les pots à coproculture sont stériles et munis d'une ouverture assez large. Ils doivent disposer d'un couvercle à vis pour être hermétiques et contenir une spatule pour prélever la selle. Ils sont transparents pour permettre l'examen macroscopique.

4.2. Transport

Il est admis que l'échantillon de selles doit être analysé dans les 2 h qui suivent le prélèvement. Il se conserve, le cas échéant, une nuit à +4 °C ou plusieurs mois congelé à –30 °C. Dans tous les autres cas, le recours à un milieu de transport glycériné est indispensable pour éviter l'acidification des selles. Il est souhaitable que l'expéditeur puisse joindre un frottis non coloré et le reste du prélèvement pour l'examen direct. Lorsque le délai d'acheminement est supérieur à une semaine, les prélèvements sur papier buvard sont utiles en particulier pour les laboratoires isolés (pays d'outre-mer).

5. Mode opératoire

5.1. Matériel

Il est nécessaire d'avoir à disposition :
– des géloses sélectives et non sélectives, et un milieu liquide pour enrichissement ;
– de l'eau physiologique ou eau peptonée (tubes de 5 mL) ;
– des lames et des lamelles ;
– un microscope ;
– des colorants pour Gram ;
– des agitateurs en verre ;
– des étuves à 37 °C et 41 °C ;
– un dispositif pour incubation en atmosphère micro-aérophile.

5.2. Examen macroscopique

On note le caractère de la selle : liquide, pâteuse, molle, sanglante, glaireuse, dure, moulée. L'examen bactériologique d'une selle moulée n'a théoriquement pas d'intérêt en dehors de l'examen systématique pour les personnels du secteur agro-alimentaire.

5.3. Examen microscopique

5.3.1. État frais

On dépose une goutte de selle liquide (ou si nécessaire, diluée en eau physiologique) entre lame et lamelle. On recherche au grossissement × 400, la présence d'hématies et de leucocytes faisant évoquer un processus entéro-invasif dû à *Salmonella, Shigella, Yersinia enterocolitica, Campylobacter*

jejuni. On peut, si nécessaire, ajouter une goutte de bleu de méthylène pour faciliter la lecture.
La présence de bactéries mobiles, en « vol de moucherons », fait évoquer la présence de *Campylobacter* sp. ou de *Vibrio* sp.

5.3.2. Coloration de Gram

Elle permet d'évaluer l'équilibre de la flore fécale : une flore équilibrée comprend environ deux tiers à quatre cinquièmes de Gram négatif, pour un tiers à un cinquième de Gram positif. L'antibiothérapie prolongée est une cause classique de déséquilibre de cette flore. Les bactéries peuvent alors être remplacées par des levures.
On recherche systématiquement la présence de *Campylobacter* sp. sous forme de petites bactéries incurvées, Gram négatif, en complément de l'état frais.
Les résultats de l'examen microscopique doivent figurer sur le compte rendu.

5.4. Ensemencement

On prélève un fragment de selle ou quelques gouttes de selles liquides que l'on dilue dans 5 mL de sérum physiologique ou d'eau peptonée. On homogénéise au Vortex, puis on ensemence les géloses en quadrant et le milieu liquide avec cinq gouttes de la préparation :
– les géloses Drigalski et BCP sont incubées 24 h à 37 °C ;
– le bouillon sélénite 24 h à 41 °C ;
– la gélose CIN pour *Yersinia* 24 h à 30 °C ;
– la gélose pour *Campylobacter* 48 h à 42 °C en atmosphère micro-aérophile.

6. Résultats

Les stratégies et les résultats sont résumés dans la *figure 1*, pour *Salmonella, Shigella, Yersinia et Campylobacter*. Les autres agents pathogènes (*Clostridium difficile, Vibrio, Aeromonas*, pathotypes d'*Escherichia coli*, toxi-infections alimentaires collectives, virus) font l'objet de chapitres spécifiques auxquels il conviendra de se reporter.

7. Pour en savoir plus

Freney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C. Précis de bactériologie médicale. Paris : Édition ESKA ; 2000.

Carbonelle B, Denis F, Marmonier A, Pinon G, Vargues R. Bactériologie médicale : techniques usuelles. Paris : Éditions SIMEP ; 1987.

Société française de microbiologie, SFM, 2M2. Référentiel en microbiologie médicale (REMIC). Édition et communication 1998.

Diarrhées infectieuses aiguës

Salmonella – Shigella – Yersinia Aspects épidémiologiques, physiopathologiques et cliniques

Alexandra Kerleguer, Jérôme Maslin



Problème majeur de santé publique, les diarrhées infectieuses aiguës (DIA) sont à l'origine d'une mortalité et d'une morbidité importantes dans le monde. Le plus souvent d'origine bactérienne, ce sont des maladies transmissibles faisant intervenir presque toujours un cycle féco-oral. Leurs modalités épidémiologiques varient d'un continent à l'autre suivant le niveau d'hygiène et la qualité des infrastructures sanitaires.

Dans les pays en voie de développement, leur transmission est favorisée par l'absence d'équipements nécessaires à l'élimination des eaux usées et à la distribution d'eau potable. Les contacts interhumains favorisent également la dissémination des microorganismes d'origine intestinale. Sous ces latitudes, les DIA sont responsables de plus de quatre millions de morts par an.

Dans les pays industrialisés, la circulation des agents entéropathogènes est maîtrisée grâce à un équipement sanitaire suffisant. On assiste en revanche à une augmentation des toxi-infections alimentaires, revers du développement de la restauration collective et de la modernisation de la chaîne alimentaire.

1. Épidémiologie

Salmonella, *Shigella* et *Yersinia* sont des entérobactéries qui peuvent infecter le tube digestif de l'homme. *Salmonella* et *Yersinia* ont un caractère ubiquitaire, *Shigella* est strictement humaine. Ces particularités épidémiologiques permettent d'expliquer les différentes modalités de transmission de ces bactéries.

1.1. *Shigella*

Shigella fut décrit pour la première fois par Chantemesse et Widal en 1888, qui l'isolèrent à partir de selles de malades atteints de dysenterie bacillaire.

Le genre est divisé en quatre espèces : *Shigella dysenteriae* (10 sérovars), *Shigella flexneri* (6 sérovars), *Shigella boydii* (15 sérovars), *Shigella sonnei* (1 sérovar).

Bactéries liées à l'homme et à son environnement, elles peuvent infecter également certains primates. La contamination est surtout directe et la dose minimale infectante est très faible. C'est une maladie du péril fécal. La contamination féco-orale est favorisée par l'absence de cloisonnement entre les eaux, les aliments et les excreta des malades et des porteurs sains. Elle est directement le témoin du niveau d'hygiène.

Dans les pays industrialisés, l'incidence des DIA dues à *Shigella* est très faible (1 ‰ par an). Les cas y sont sporadiques, avec un pic de fréquence maximal enregistré vers la fin de l'été. Dans les régions à faible niveau d'hygiène, la shigellose est endémo-épidémique. L'incidence est 50 à 100 fois plus élevée que dans les pays développés. Elle atteint surtout les enfants de moins de 5 ans (rarement avant 6 mois, lorsqu'ils sont nourris au lait maternel). Dans la zone intertropicale, la maladie donne lieu à des épidémies « explosives » avec des taux d'attaque de 1 à 50 %. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime à plusieurs millions le nombre de cas annuels, avec une létalité

de plus de 10 %, essentiellement chez les patients dénutris ou affaiblis. Les épidémies se déclarent pendant les saisons humides où la diffusion du germe est favorisée par les insectes, notamment les mouches, qui réalisent un véritable « pont aérien » de transmission entre les excreta et les aliments.

La fréquence relative des espèces varie selon le climat et les zones géographiques. *S. flexneri* et *S. dysenteriae* prédominent en Asie du Sud-Est. *S. boydii* est plus fréquente en Inde. En France, *S. sonnei* et *S. flexneri* représentent 80 % des souches isolées, contre 5 % pour *S. dysenteriae* (qui était l'espèce la plus fréquemment isolée avant la Première Guerre mondiale), et 10 % pour *S. boydii*.

L'amélioration des conditions d'hygiène entraîne une redistribution des espèces isolées. Ainsi, *S. sonnei* tend à devenir l'espèce dominante lorsque les conditions socio-économiques augmentent. Une des hypothèses serait la parenté antigénique entre *Plesiomonas shigelloides* (contaminant habituel des eaux de boisson dans les régions à faible niveau d'hygiène) et *S. sonnei*. L'immunité des populations envers *Plesiomonas shigelloides* diminuerait avec l'augmentation du niveau de vie, les rendant plus réceptrices à *S. sonnei*.

1.2. *Salmonella, Yersinia*

Salmonella et *Yersinia* sont des bactéries très répandues dans la nature. La contamination, qui peut être directe et interhumaine, est cependant plus fréquente par l'intermédiaire d'aliments contaminés lors de toxi-infections alimentaires (TIA). *Salmonella* possède deux caractéristiques qui expliquent probablement sa très large distribution :

– le réservoir naturel de *Salmonella* est large, s'étendant à tout le monde animal, à l'exception de *S. typhi (figure 1)* ;

– sa capacité de survie dans le milieu extérieur et en environnement hostile est très élevée.

Les infections dues à *Salmonella enterica* représentent la cause la plus fréquente de DIA d'origine alimentaire. L'espèce *Salmonella enterica* est classée en trois groupes principaux :

– le premier groupe comprend *Salmonella* sérovar Typhi, *Salmonella* sérovar Paratyphi A, *Salmonella* sérovar Sendai. Strictement humaines, elles sont responsables de septicémies (fièvre typhoïde) ;

– le deuxième groupe comprend des sérovars spécifiquement adaptés à des espèces de vertébrés, comme *Salmonella* sérovar Gallinarum (volailles). Certains de ces sérovars sont également pathogènes pour l'homme, en particulier le sérovar Dublin ;

– le troisième groupe comprend la majorité des autres sérovars de salmonelles qui n'ont pas d'hôte préférentiel et infectent aussi bien l'homme que les animaux. C'est dans ce troisième groupe que se trouvent tous les sérovars de *Salmonella enterica* ubiquitaires, potentiellement pathogènes pour l'homme, chez lequel ils sont responsables d'un syndrome de gastro-entérite fébrile lorsque le quantum infectieux est suffisamment élevé. Les sérovars les plus fréquemment isolés dans notre pays sont : Enteritidis, Typhimurium, Hadar, Virchow, Infantis, Newport.

La relation hôte/bactéries est soumise à des variations dépendantes des espèces. Certaines souches provoquent une gastro-entérite chez les bovins, alors

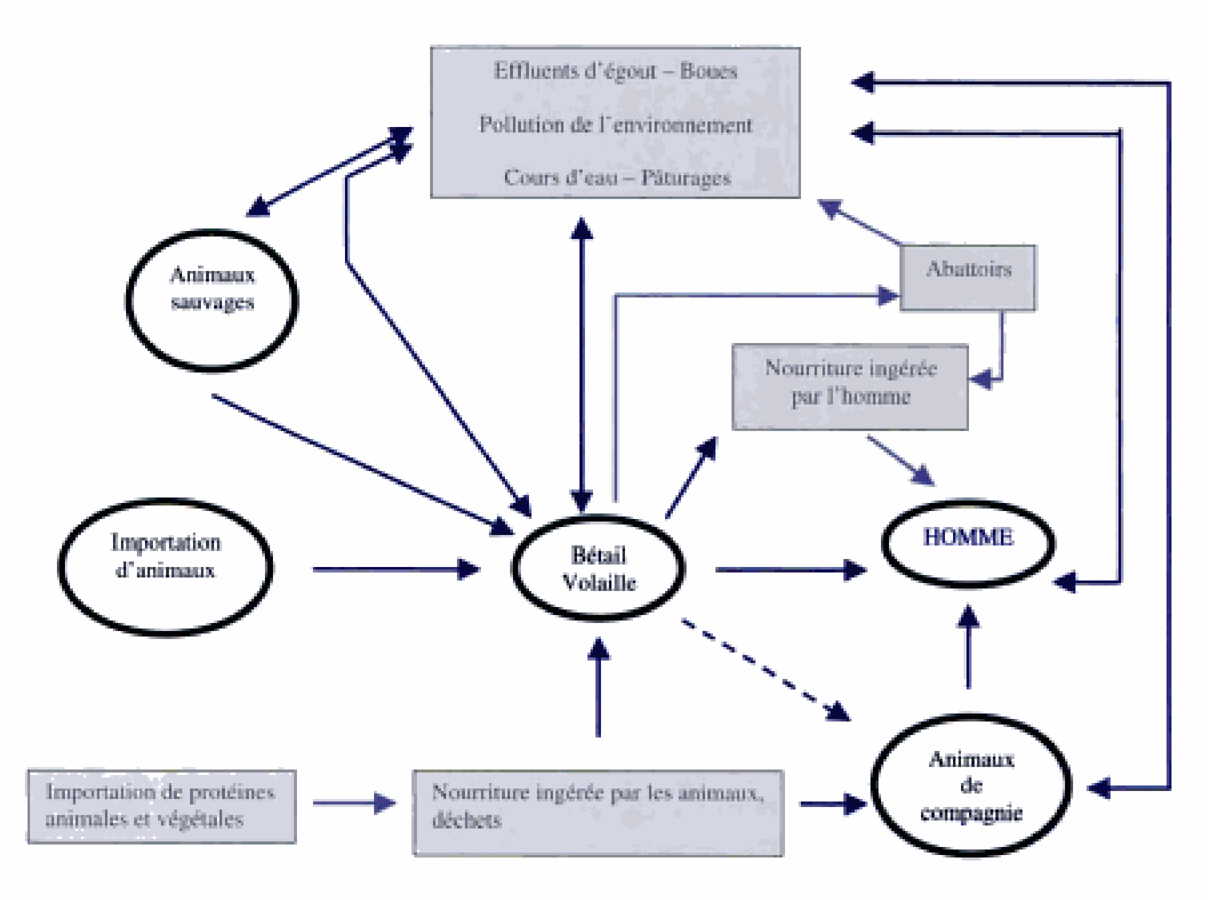


Figure 1. Cycle épidémiologique des salmonelles non typhoïdiques.

que les volailles sont « porteurs sains » (exemple : *Salmonella* sérovar Dublin, *Salmonella* sérovar Typhimurim).
Les contaminations humaines issues de la filière volaille ou bovine, de même que la circulation de différents sérovars de *Salmonella* dans l'environnement, ont été parfaitement mises en évidence. L'exemple de *Salmonella* sérovar Hadar, isolée au départ dans des élevages industriels de dinde, puis transmise à l'homme et trouvée dans l'environnement, est tout à fait significatif.
Les infections peuvent être sporadiques (contaminations familiales) ou se manifester sous formes d'épidémies. Les aliments dits « à risque » sont ceux à base de produits crus : lait cru et dérivés, œufs, mayonnaise....
Yersinia (*enterolitica* et *pseudotuberculosis*) sont des entérobactéries fréquemment isolées. Leur réservoir est très diversifié : animal (mammifères, oiseaux, insectes, mollusques, crustacés) et environnemental (eau des lacs, sol, légumes...). La transmission de l'agent pathogène à l'homme survient après l'ingestion d'aliments contaminés (porc, volaille, lait, eau) ou bien par contact avec des animaux domestiques (chats, hamsters, cobayes). On ne connaît pas de cas documentés de transmission interhumaine, à l'exception de rares cas de chocs septiques survenus au cours d'une transfusion de sang contaminé par *Yersinia enterolitica*.
Plus de 75 antigènes somatiques ont été répertoriés chez *Yersinia enterolitica*, mais les souches pathogènes pour l'homme se répartissent essentiellement dans les sérogroupes O:3, O:8, O:9, O:5,27, O:13 et O:21.

Les sérogroupes O:8, O:13 et O:21 se rencontrent essentiellement en Amérique du Nord, alors que les autres sérogroupes sont cosmopolites. Les infections sont le plus souvent sporadiques. Des cas d'infections épidémiques ont été rapportés : ils concernent plusieurs centaines de sujets (essentiellement des enfants) aux États-Unis et au Japon.

Yersinia pseudotuberculosis est une zoonose parfois d'allure épidémique, atteignant les mammifères (notamment les rongeurs) ainsi que les oiseaux. L'homme peut occasionnellement intervenir dans le cycle et être infecté de manière isolée.

2. Physiopathologie

Les mécanismes physiopathologiques des DIA sont multiples et complexes. Ils peuvent être regroupés en quatre types majeurs, résumés dans le *tableau 1*. *Shigella*, *Yersinia* et *Salmonella* ont en commun la capacité d'invasion de l'épithélium.

Cependant, la séparation entre ces mécanismes n'est pas toujours claire. Certains agents pathogènes peuvent associer deux modes d'action. Ainsi, le pouvoir invasif des bactéries de type *Shigella* est renforcé par l'action d'une cytotoxine, celles de type *Yersinia* par la sécrétion d'une entérotoxine.

2.1. Barrière gastrique

La première étape, commune à tous les agents transmis par voie orale, est le passage obligatoire dans l'estomac. Ainsi, après ingestion, une grande partie des agents pathogènes est détruite par l'acidité gastrique. L'inoculum infectant joue donc un rôle clé dans le déterminisme de la maladie.

Pour les infections à *Shigella*, le quantum infectieux (quantité de bactéries nécessaire pour que le processus infectieux puisse se développer) est faible 10^{1-2}. Cet état est en partie lié à la résistance de la bactérie à l'acidité gastrique. Pour *Salmonella*, il est de 10^5 . Chez *Yersinia*, plus de 90 % des bactéries sont détruites lors de la traversée de l'estomac et le quantum infectieux est proche de 10^{10}.

Tableau 1. Résumé des mécanismes des DIA.

Mécanisme	Pathogène
Production d'une toxine en l'absence de colonisation	*Staphylococcus aureus/Clostridium perfringens*
Colonisation de l'épithélium et production d'une entérotoxine sans atteinte structurale	*Vibrio cholerae*
Colonisation avec atteinte structurale de l'épithélium	*Plesiomonas shigelloides/Clostridium difficile*
Invasion de l'épithélium	*Shigella/Salmonella/Yersinia*

2.2. Adhérence, colonisation et invasion

L'épithélium intestinal est normalement imperméable à la flore intestinale. Les mucus, les glycocalyx, les microvillosités de la bordure en brosse et les jonctions cellulaires serrées, constituent une véritable barrière. *Shigella* et *Yersinia* s'assurent un passage transépithélial par l'intermédiaire de sites de translocation. Ces sites correspondent à la présence de follicules lymphoïdes, surmontés d'une zone indifférenciée de l'épithélium marqué par la présence de cellules M. Cette organisation lymphoïde très structurée, effectrice de l'immunité locale, est dénommée « *Malt* » pour *Mucosa-associated lymphoid tissue (figure 2)*. Les cellules M, dépourvues de glycocalyx à leur apex, sont douées d'une forte capacité d'endocytose. Leur fonction est la capture des antigènes intraluminaux, puis leur transfert vers les cellules compétentes du système immunitaire.

Le franchissement de la barrière intestinale est multifactoriel, mettant en jeu à la fois la capacité d'endocytose des cellules M et des facteurs chromosomiques ou plasmidiques spécifiques des bactéries.

Deux notions doivent être précisées :

– les « îlots de pathogénicité » : les études sur les facteurs de virulence des bactéries entéropathogènes ont permis de mettre en évidence des gènes d'origines plasmidiques et chromosomiques. On a pu remarquer que les facteurs chromosomiques étaient souvent regroupés dans des régions du chromosome appelées « îlots de pathogénicité ». Ce sont des fragments d'ADN pouvant aller jusqu'à 200 kb et ne se trouvant que dans les souches pathogènes. Leur acquisition est probablement liée à une transmission horizontale ;

– le système de sécrétion de type III : il s'agit d'un système caractérisé par la sécrétion de protéines bactériennes, déclenchée par contact avec la cellule-cible eucaryote.

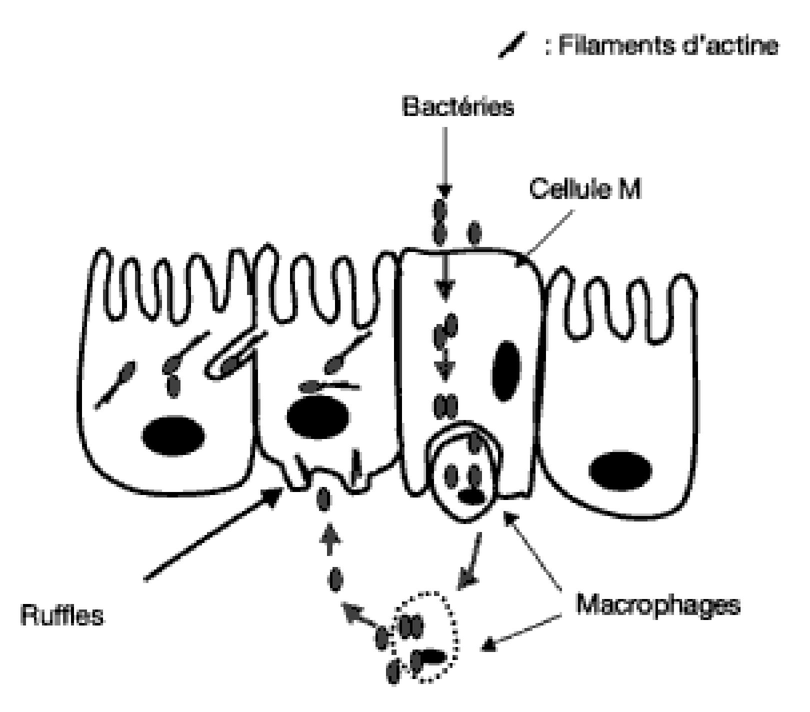


Figure 2. Modèle d'invasion par *Shigella* de la muqueuse intestinale.

2.2.1. *Shigella*

À l'instar des autres entérobactéries, la plupart des sérotypes de *Shigella* possèdent des fimbriae de type I, dont la synthèse est sous contrôle chromosomique et qui reconnaissent le mannose comme récepteur. Ces fimbriae sont impliquées dans l'adhésion bactérienne. D'autres protéines (adhésines) participent également à cette étape.

Shigella ne pénètre pas dans le cytoplasme des cellules épithéliales via l'apex, mais par la région latérobasale. Or, cette région n'est pas en contact avec la lumière intestinale. La pénétration de *Shigella* repose donc sur l'utilisation des cellules M et l'envahissement secondaire des cellules épithéliales *(figure 2)*. Les bactéries sont phagocytées par les macrophages résidents dont elles vont induire l'apoptose. Cette infection est responsable d'une libération massive de cytokines pro-inflammatoires (IL1) et de la mort apoptotique du macrophage (causée par la liaison d'*IpaB* à ICE [*Interleukin-1β converting enzyme*]). L'IL1 relarguée provoque la migration de polynucléaires neutrophiles. L'apoptose du macrophage induit une réponse inflammatoire précoce qui va faciliter l'invasion.

L'entrée dans la cellule épithéliale et la colonisation des cellules adjacentes ont été particulièrement étudiées in vitro sur culture cellulaire.

L'entrée dans la cellule repose sur un mécanisme de macropinocytose. Au contact de sa cellule-hôte, *Shigella* induit sa propre phagocytose. La cellule émet des déformations membranaires ou « ruffles ». Les effecteurs de l'entrée cellulaire sont sous la dépendance des gènes *mxi-spa* (*membrane expression of invasion plasmid antigens–surface presentation of antigens*) codant pour des antigènes de surface *(tableau 2)*. Le foyer d'entrée de la bactérie est formé de points de nucléation d'actine, à partir desquels se produit leur élongation. Celle-ci permet la formation d'extensions cellulaires (« ruffles ») qui entourent le corps bactérien, puis forment des feuillets membranaires qui fusionnent pour constituer une vacuole.

Les protéines codées par les gènes *Ipa* sont impliquées dans ce remaniement membranaire ; elles sont indispensables à l'invasion. Les mutants qui n'ont plus la capacité de sécréter ces protéines perdent leur pouvoir d'invasion. La polymérisation de l'actine est la clé du mécanisme de formation du foyer d'entrée. En l'absence de l'une des invasines *Ipa B, C* ou *D*, l'adhésion bactérienne s'exprime, mais sans polymérisation de l'actine. *IpgC* est nécessaire

Tableau 2. Gènes d'invasion chez *Shigella*.

Gènes	Récepteur	localisation
IpaD (Invasion plasmid antigen)	Vinculine	Plasmidique
IpaB-C (Invasion plasmid antigen)	Fibronectine	Plasmidique
Mxi proteins gene (Membrane expression of invasion)	Inconnu	Plasmidique
IpgC (Invasion plasmid gene)	Inconnu	Plasmidique
IcsA-B (Intra/intercellular spreading)	Actine	Plasmidique

à la stabilisation des *Ipa*, dans le cytoplasme bactérien, elle inhibe la liaison de *IpaB* à *IpaC*. *IcsA* et *B* sont nécessaires à la diffusion intercellulaire. Elles permettent ainsi la colonisation et le passage d'une cellule infectée à une cellule saine adjacente.

Une fois internalisée, la bactérie lyse la vacuole formée lors de son endocytose et se trouve à l'état libre dans le cytoplasme. Elle se multiplie grâce à un sidérophore de type hydroxamate et colonise le cytoplasme. Dès sa translocation dans le cytoplasme, elle amorce des mouvements intracellulaires en utilisant la polymérisation de l'actine comme mode de propulsion. Grâce à *IcsA*, qui induit cette polymérisation, la bactérie est « propulsée » selon une trajectoire polarisée. Deux types de mouvement sont décrits :

– Olm (*organelle liked movement*) assure un glissement de la bactérie le long des filaments d'actine. Ce mouvement est impliqué uniquement dans la colonisation cellulaire ;

– Ics (*intra cellular sreading*) permet la colonisation et le passage de la cellule infectée à la cellule adjacente.

À hauteur des jonctions intercellulaires, il y a formation de protrusions membranaires qui seront phagocytées par la cellule adjacente. La bactérie effectue la lyse des deux membranes dans lesquelles elle est englobée *(figure 3)*. En ne quittant pas le cytoplasme, elle échappe aux défenses immunitaires et peut envahir la muqueuse digestive.

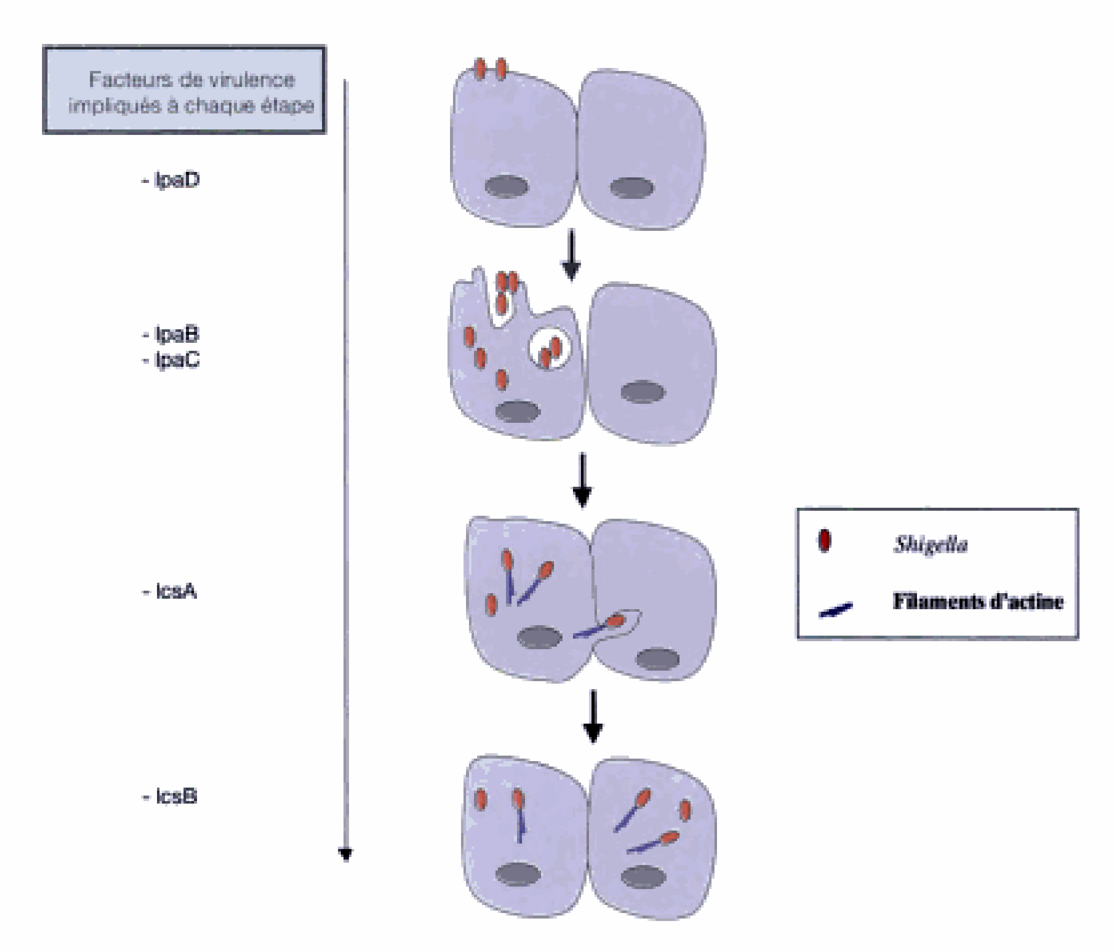


Figure 3. Étapes d'adhésion et d'invasion de cellules en culture chez *Shigella* sp.

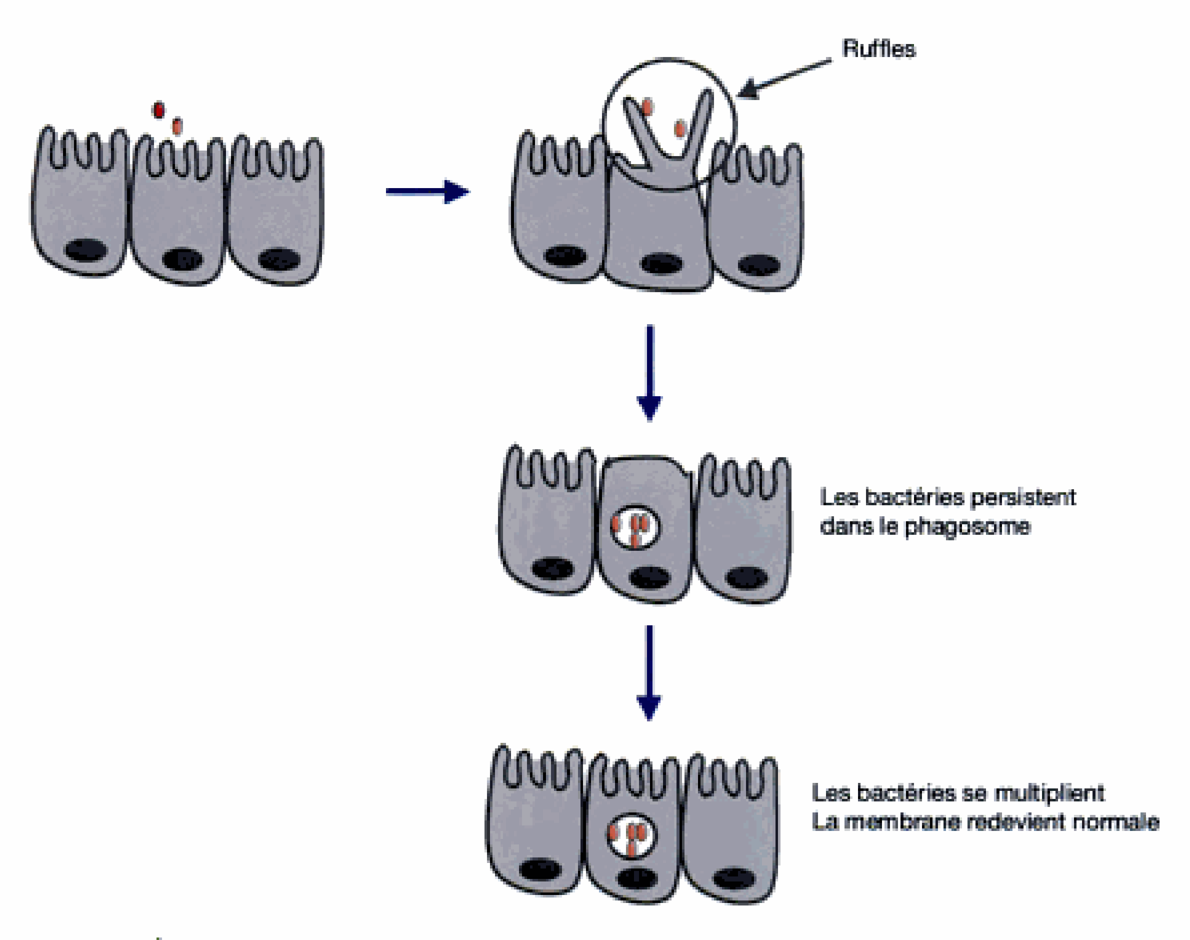


Figure 4. Étapes d'adhésion et d'invasion des cellules épithéliales chez *Salmonella enterica.*

La dysenterie bacillaire est le résultat de l'invasion de la muqueuse intestinale, associée à l'inflammation du tissu conjonctif, suite à la destruction des entérocytes. Les dégâts tissulaires résultent de l'action cytotoxique des polynucléaires et de l'entretien de l'inflammation par la bactérie. La nécrose inflammatoire du côlon entraîne la formation d'ulcérations et de micro-abcès.

2.2.2. *Salmonella*

Comme chez *Shigella*, la cellule phagocytaire émet des déformations membranaires (ruffles/pseudopodes), et l'internalisation de la bactérie est accompagnée d'un réarrangement des filaments d'actine *(figure 4)*. Toutes ces modifications sont sous la dépendance de gènes d'invasion, situés sur l'îlot de pathogénicité SPI-1 : *inv*A et *org*A. Les mutants n'ayant pas la capacité de sécréter ces protéines, gardent leur capacité d'adhésion mais perdent leur pouvoir invasif. L'îlot de pathogénicité SPI-1 code deux protéines de régulation différentes, InvF et HilA, participant au système de sécrétion de type III appelé Inv/Spa, nécessaire pour la formation des appendices de surface lors du contact bactérie/cellule-hôte. Les protéines sécrétées stimulent une cascade de signaux qui provoquent l'internalisation des bactéries.

Au contraire de *Shigella*, *Salmonella* pénètre directement dans les cellules épithéliales. Les bactéries ne sont pas libérées dans le cytoplasme de la cellule infectée

et persistent à l'intérieur du phagosome en empêchant la fusion phagosome/lysosome. De plus, des facteurs de virulence (catalase, superoxyde dismutase) réduisent l'efficacité des composés toxiques libérés par le lysosome (composés oxygénés toxiques, protéases, lysozymes), permettant la survie de la bactérie. *Salmonella* induit l'apoptose des macrophages grâce aux protéines Sip (SipB-D) qui sont injectées à la cellule-cible. La membrane cellulaire n'est pas altérée.

2.2.3. *Yersinia*

Comme chez *Shigella*, l'entrée dans les cellules épithéliales se fait par leur pôle basal *(figure 5)*. Il existe donc une étape initiale où *Yersinia* pénètre la barrière intestinale par l'intermédiaire des cellules M.

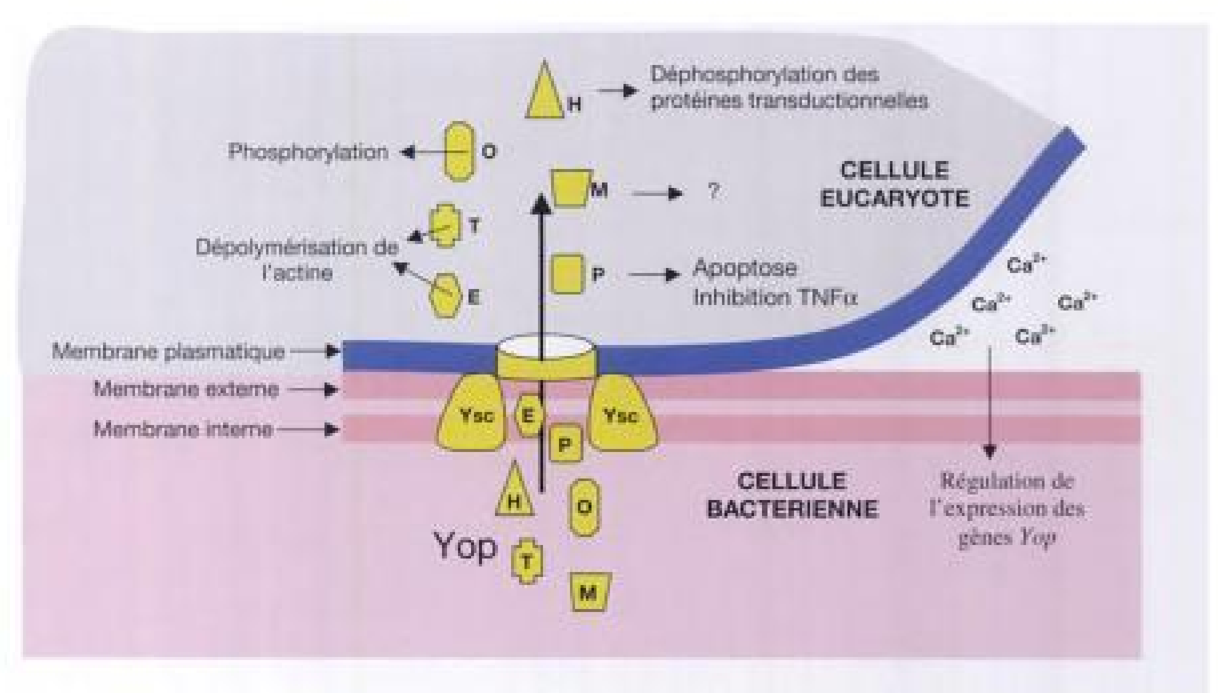
L'invasion des cellules est ici, sous la dépendance de quatre gènes *(tableau 3)* :

– le gène *myf* code pour une structure fibrillaire identifiée chez les souches pathogènes, mais son récepteur est encore inconnu, et son implication dans la virulence n'a pas encore été démontrée ;

– *inv* commande la synthèse de l'invasine, une protéine de la membrane externe bactérienne qui se lie à des intégrines de type β1 ;

– *ail* code lui aussi pour une protéine de membrane. Les deux gènes *ail* et *inv* sont indispensables à l'invasion bactérienne (*ail* est absent et *inv* non exprimé chez les souches non pathogènes pour l'homme) ;

– *yadA* est situé sur le plasmide de virulence pYV. Il s'exprime uniquement chez les espèces entéropathogènes et facilite la colonisation intestinale. Une autre propriété biologique de *yadA* est son aptitude à inhiber la voie alterne



Le contact de la bactérie avec la cellule eucaryote déclenche l'ouverture d'un pore et l'entrée des protéines Yop dans la cellule eucaryote.

Figure 5. Interaction entre *Yersinia* et la cellule-hôte.

Tableau 3. Gènes d'invasivité chez *Y. enterolitica* et *Y. pseudotuberculosis.*

Gènes	Récepteur	Localisation
Myf (Mucoid Yersinia factor)	Inconnu	Chromosomique
Inv (Invasion)	Bêta1-intégrine	Chromosomique
Ail (Attachment invasion locus)	Inconnu	Chromosomique
YadA (Yersinia adhesin)	Bêta1-intégrine/fibronectine laminine/mucine	Plasmidique

Tableau 4. Caractéristiques et fonctions des facteurs de virulence qui permettent la survie de *Yersinia* dans les tissus et dans le sang.

Dénomination	Taille (kDa)	Rôle	Localisation
YadA	45–50	Résistance à l'activité bactéricide du sérum	Surface de la bactérie
YopE	23–26	Cytotoxine Destruction des monomères d'actine	Injecté dans la cellule-hôte
YopH	45–51	Tyrosine phosphatase Interagit avec les voies de transmission des signaux des macrophages	Injecté dans la cellule-hôte
YopM	44–48	Inhibe l'agrégation plaquettaire Activité anti-inflammatoire	Extracellulaire
LcrV	37–41	Régulation de la production des protéines Yop	Extracellulaire

d'activation du complément sérique et de conférer une résistance des bactéries à l'action de sérum.

Les autres facteurs de virulence de *Yersinia* sont sous la dépendance de nombreux gènes plasmidiques. Leur synthèse dépend de certaines conditions (température de 37 °C, teneur en Ca^{2+}). Ces protéines sont indispensables à l'expression de la virulence car elles vont permettre aux bactéries de résister à la phagocytose et contribuent à l'altération de la cellule eucaryote. Elles peuvent être classées en trois groupes, selon leur fonction *(tableau 4)* :

– les protéines effectrices : YopE, YopH, YpkA, YopO, YopP, YopT (intracellulaires) ;

– les protéines de transfert : YopB, YopD, YopK facilitent le passage des protéines effectrices dans le cytoplasme de la cellule-cible. YopB et YopD créent un pore dans la membrane cytoplasmique de la cellule eucaryote, tandis que YopK contrôle la taille du pore formé ;

– les protéines régulatrices contrôlent soit l'expression des gènes *yop*, soit la sécrétion des protéines Yop.

2.3. Autre facteur de pathogénicité : toxines

Le pouvoir pathogène de *Shigella*, essentiellement dû à son caractère invasif, peut être renforcé par l'action d'une cytotoxine, dont l'expression à un taux élevé est rencontré chez *S. dysenteriae 1* (bacille de Shiga). L'effet principal de cette toxine (toxine de Shiga) s'exerce à hauteur de la vascularisation capillaire

intestinale, responsable de phénomènes ischémiques et hémorragiques. Cette toxine, d'origine chromosomique, est apparentée génétiquement et antigéniquement à la toxine SLT-I des souches entérohémorragiques d'*Escherichia coli*. Elle est composée d'une sous-unité A catalytique et de cinq sous-unités B qui se lient au récepteur cellulaire, le globotriosyl céramide (Gb3). C'est le disaccharide terminal de ce glycopeptide qui est spécifiquement reconnu par la sous-unité B. La toxine est libérée lors de la lyse bactérienne et internalisée par endocytose. À la suite de la fusion de l'endosome avec un lysosome, il y a protéolyse partielle et réduction du pont disulfure. Il en résulte la libération intracellulaire d'une N-glycosidase active (A1), capable d'hydrolyser l'adénosine 4324 de l'ARN ribosomal 28S, responsable d'une inhibition de la synthèse protéique par inactivation de la fonction d'élongation peptidique. Deux nouvelles entérotoxines ont été récemment décrites : la première (ShET1) est codée par un gène chromosomique de *S. flexneri* 2a ; la seconde (ShET2), plasmidique, est retrouvée chez 79 % des quatre espèces. Les données actuelles ne permettent pas d'impliquer avec certitude ShET1 ou ShET2 dans la pathogenèse de la diarrhée induite par *Shigella*.

La pathogénie des entérocolites à *Salmonella* est encore mal connue. Une entérotoxine thermolabile, d'origine chromosomique (et peut-être aussi plasmidique) est produite, mais son rôle est mal défini.

Le pouvoir pathogène de *Yersinia* peut être renforcé par l'action d'une entérotoxine, Yst. Sa séquence protéique est proche de celle de la toxine thermostable synthétisée par certaines souches d'*Escherichia coli* entérotoxinogènes. Cette toxine est sécrétée à 30 °C, uniquement sous forme d'une prétoxine de 71 aminoacides. Elle semble bien jouer un rôle important dans le processus infectieux, puisqu'une souche de *Y. enterolitica* ne produisant pas de toxine, ne déclenche pas de diarrhée. Mais son rôle pathogène réel n'est pas clairement établi. Le gène *yst*, qui code pour cette toxine, est absent chez *Y. pseudotuberculosis*, ce qui pourrait expliquer la rareté des diarrhées au cours d'une infection digestive par cette espèce.

3. Aspects cliniques

Les formes cliniques sont très liées à l'épidémiologie et à la physiopathologie des agents bactériens *(tableau 5)*.

3.1. Shigellose

Classiquement, on distingue, selon la gravité de l'infection, la dysenterie bacillaire due essentiellement à *Shigella dysenteriae* et les entérites infectieuses dues aux autres espèces.

Quelle que soit l'espèce en cause, l'incubation varie de 1 à 3 j.

La forme dysentérique aiguë classique débute brusquement par une diarrhée cholériforme. Le syndrome dysentérique s'installe en 1 à 2 j, marqué par l'association de ténesmes, de douleurs abdominales violentes, d'épreintes parcourant le cadre colique et de l'émission de selles fréquentes, afécales,

Tableau 5. Résumé des principaux signes cliniques en fonction des agents pathogènes.

Bactérie	Diarrhée	Dysenterie	Douleurs	Vomissements	Fièvre	Incubation
Shigella	+	+	+	+	+	24 à 72 h
Salmonella	+	0	±	±	+	12 à 36 h
Yersinia	+	0	±	0	±	?

mucopurulentes et hémorragiques. La fièvre élevée (39 °C–40 °C) et les douleurs sont constantes. Les signes généraux peuvent être graves avec *Shigella dysenteriae*. L'altération de l'état général est lié à la déshydratation avec un risque important de collapsus aux âges extrêmes de la vie.

Le plus souvent, la diarrhée cède en 2 ou 3 j, mais les complications ne sont pas rares. Les difficultés digestives sont essentiellement des manifestations tissulaires toxiques (prolapsus rectal, mégacôlon, perforation digestive). Les complications extradigestives sont variées et souvent rencontrées dans les formes graves dues à *Shigella dysenteriae* ou *Shigella flexneri* :

– bactériémie parfois associée à des localisations métastatiques ;

– hypoglycémie inférieure à 2,2 mmole/L ;

– manifestations neurologiques (céphalées, convulsions, coma) ;

– insuffisance rénale, glomérulonéphrite aiguë ;

– syndrome hémolytique et urémique (SHU), correspondant à un processus hémolytique micro-angiopathique, dû aux lésions de l'épithélium capillaire rénal. Il associe une anémie hémolytique, une thrombocytopénie et une insuffisance rénale. Des réactions leucémoïdes (leucocytose supérieure à 40 000/mm^3 avec myélocytose et blastose périphérique) sont souvent observées ;

– un syndrome de Fiessenger-Leroy-Reiter (arthrite stérile, uvéite et uréthrite) peut être observé chez l'adulte, notamment en cas d'infection à *Shigella flexneri* chez des sujets HLA B27.

Les formes atténuées sont fréquentes avec les autres espèces. L'entérite est moins grave, associant à des degrés divers fièvre, douleurs abdominales et diarrhées aqueuses.

3.2. Salmonellose

Les germes de *Salmonella* non typhique sont les plus fréquemment en cause dans les TIA. L'incubation est de 12 à 36 h. Les gastro-entérites à *Salmonella* ne sont pas caractéristiques : elles associent diarrhées fébriles, douleurs abdominales et vomissements.

L'évolution est en règle générale favorable en 2 à 3 j.

Les complications sont rares, mais peuvent se rencontrer aux âges extrêmes de la vie, chez le sujet immunodéprimé et chez les patients drépanocytaires. Les salmonelloses septicémiques associent un syndrome infectieux sévère (fièvre, altération de l'état général), une splénomégalie et des localisations suppurées secondaires (osseuses, rénales, hépatiques, méningées).

3.3. Yersiniose

La manifestation clinique la plus commune de l'infection par *Yersinia enterolitica* est l'entérocolite. Elle survient le plus souvent sur des terrains à risque (jeunes enfants) et se traduit par une diarrhée aqueuse, une fièvre habituellement modérée et des douleurs abdominales.
Chez l'adolescent, l'adulte jeune ou lors d'une infection par *Yersinia pseudotuberculosis*, le tableau clinique est celui d'un syndrome appendiculaire, traduisant une adénite mésentérique.
Des formes extra-intestinales se développant en l'absence de bactériémie ont été décrites. La plus fréquente est une pharyngite parfois accompagnée d'adénopathies cervicales.
Les complications surviennent sur des terrains particuliers :
– les formes septicémiques surviennent chez les sujets présentant un déficit immunitaire (immunodépression thérapeutique, diabète, hémochromatose, insuffisance rénale chronique). Des métastases infectieuses peuvent être observées. Le pronostic est sévère, dépendant de l'affection sous-jacente ;
– la survenue d'une arthrite réactionnelle est classique au décours d'une infection à *Yersinia enterolitica*, moins fréquente avec *Yersinia pseudotuberculosis*. L'arthrite réactionnelle atteint préférentiellement les adultes jeunes. Elle peut s'intégrer dans le cadre nosologique d'un syndrome de Fiessenger-Leroy-Reiter, chez les sujets HLA B27 ;
– la survenue d'un érythème noueux est, en revanche, plus fréquent lors d'infections à *Yersinia pseudotuberculosis*. Il survient principalement chez les hommes de moins de 20 ans, et siège préférentiellement à hauteur des membres inférieurs. De nature immuno-allergique, il n'est pas lié à la présence de l'antigène HLA B27.

4. Conclusion

La shigellose est une maladie du péril fécal devenue rare dans les pays industrialisés, mais très fréquente dans les pays en voie de développement. La transmission est essentiellement interhumaine, le plus souvent directement par les mains sales, et *Shigella* peut être à l'origine d'épidémies caractérisées par un taux d'attaque élevé. Ces bactéries sont des organismes étroitement adaptés à l'homme et dont le métabolisme semble en grande partie tourné vers la production de facteurs de virulence, ce qui en fait un pathogène quasi obligatoire, dès lors qu'il est absorbé.
Les yersinioses et les salmonelloses, qui sont de loin les plus fréquentes, sont surtout des maladies d'origine alimentaire, habituellement sans profil saisonnier, mais pouvant être à l'origine d'anadémies en cas d'intoxication alimentaire collective. Dans tous les cas, les mécanismes physiopathologiques sont complexes, multifactoriels, variés et probablement hétérogènes selon la souche. Sur le plan physiopathologique, le caractère parfois trop simpliste ou inexact des classifications a pu faire oublier la grande complexité des mécanismes en cause et la variabilité de l'interaction avec le système immunitaire de l'hôte.

La connaissance de ces mécanismes a essentiellement deux intérêts pratiques :
– un intérêt curatif, avec la nécessité d'utiliser des molécules diffusant dans le tube digestif et surtout dans les cellules (antibiotiques à diffusion intracellulaire). On connaît les conséquences écologiques délétères de la persistance du portage de salmonelles après l'utilisation de céphalosporines ;
– un intérêt pour le développement de vaccins qui est une priorité vis-à-vis de maladies qui représentent dans certaines régions un enjeu majeur de santé publique.

5. Pour en savoir plus

Bottone EJ. *Yersinia* enterolitica : the charisma continues. Clin Microbiol Rev 1997 ; 10 : 257-76.

Demers B, Sanonetti P. Mécanismes moléculaires des diarrhées bactériennes. Méd Thér 1997 ; 3 : 315-24.

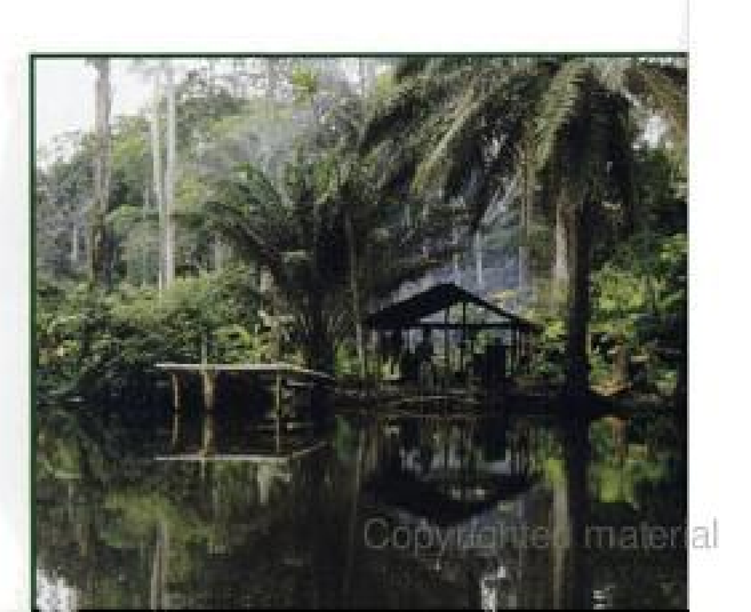
Galmiche A, Bruzzone M, Lemichez E, Boquet P. Les facteurs de virulence des bactéries entéropathogènes. Hepato-Gastroenterology 1998 ; 5 : 57-63.

Saylers AA, Whitt DD. Bacterial pathogenesis : a molecular approach. Washington DC : ASM Press ; 1994.

Diarrhées infectieuses aiguës dues à *Campylobacter* sp.

Philippe Lehours, Francis Mégraud

- Taxonomie
- Épidémiologie
- Pathogenèse et immunité
- Présentations cliniques
- Diagnostic bactériologique des infections à *Campylobacter*
- Traitement des infections dues à *Campylobacter*
- L'essentiel
- Pour en savoir plus



1. Taxonomie

1.1. Famille des *Campylobacteraceae*

Les bactéries du genre *Campylobacter* appartiennent à la superfamille VI des bacilles à Gram négatif qui comprend quatre genres : *Campylobacter, Arcobacter, Helicobacter* et *Wolinella*. *Campylobacter* et *Arcobacter* forment la famille des *Campylobacteraceae* et ont en commun leurs caractères asacharolytique, micro-aérophile et un G/C % bas (28 à 46 %).

Cette famille comprend des bactéries à Gram négatif mobiles, incurvées ou spiralées. La mobilité typique de *Campylobacter*, dite « en vol de moucheron », est due à la présence de deux flagelles bipolaires.

Campylobacter et *Arcobacter* sont chimio-organotrophes. Ils utilisent les acides aminés et organiques comme source d'énergie alors que les sucres sont très rarement métabolisés.

Plusieurs études ont montré une fréquence importante des bactéries de type *Arcobacter* au niveau de sources alimentaires. Toutefois, son isolement chez l'homme étant à ce jour anecdotique, peut-être par défaut d'utilisation de méthodes adaptées, ces bactéries ne seront pas considérées dans ce chapitre.

1.2. Genre *Campylobacter*

Les bactéries du genre *Campylobacter* sont des bacilles spiralés de 0,2 à 0,8 µm d'épaisseur, et de 0,5 à 5 µm de long *(figure 1)*. La plupart se multiplient à 37 °C, mais certains, en particulier *C. jejuni*, ont leur optimum de croissance à 42 °C. Ainsi, en fonction de la température optimale de croissance et de l'atmosphère préférentielle d'incubation, il est possible de différencier trois groupes au sein du genre *Campylobacter (tableau 1)* :

– le groupe « thermophile » regroupe les espèces les plus importantes impliquées en pathologie humaine, à savoir *C. jejuni* et *C. coli* ;

– le groupe « fetus » avec *C. fetus* subsp. *fetus* et *C. fetus* subsp. *venerealis* ;

– le groupe « anaérobie » avec de nombreuses espèces essentiellement saprophytes de la cavité buccale, plus rarement rencontrées en situation pathogène.

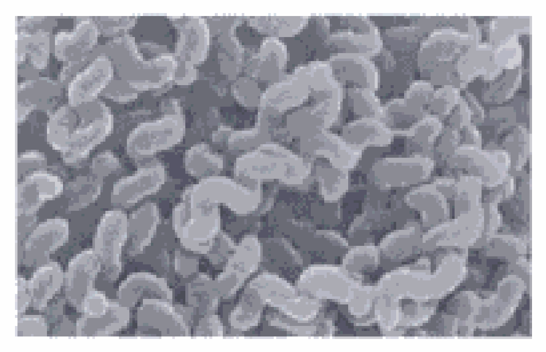


Figure 1. *Campylobacter jejuni* observé en microscopie électronique à balayage (photo D. Taylor, université d'Alberta, Californie, États-Unis).

Tableau 1. Classification des principales espèces du genre *Campylobacter*.

Groupe « thermophile »	*C. jejuni* *C. coli* *C. lari* *C. upsaliensis*
Groupe « fetus »	*C. fetus* subsp. *fetus* *C. fetus* subsp. *venerealis* *C. hyointestinalis*
Groupe « anaérobie »	*C. concisus* *C. curvus* *C. rectus* *C. mucosalis* *C. sputorum*
Autres	*C. gracilis* *C. helveticus* *C. hominis* *C. showae*

2. Épidémiologie

2.1. Source de contamination

Des études chez des volontaires ont montré que l'ingestion de 10^3 à 10^6 bactéries provoquait une infection chez 10 à 50 % des individus. Ainsi, la dose infectante pour *C. jejuni* est supérieure à celle décrite pour *Shigella* spp. ou *Giarda intestinalis*.

Dans les pays développés, on estime que la majorité des infections humaines dues à *Campylobacter* est acquise lors de la préparation et de la consommation de volaille, notamment le poulet. Cette observation n'est pas surprenante, car les carcasses de poulet sont universellement contaminées par *Campylobacter*. Une cuisson inadéquate peut entraîner l'ingestion d'une quantité suffisante de bactéries pour provoquer une infection. La contamination croisée d'aliments mangés crus, à partir de la volaille, est également considérée comme étant une fréquente cause d'infection. La consommation d'autres aliments d'origine animale est aussi en cause. Cette infection survient après un voyage à l'étranger dans 10 à 15 % des cas, pour des pays comme la France, l'Angleterre, le Danemark, et beaucoup plus souvent en Scandinavie (50 %).

Les cas sporadiques d'infection à *Campylobacter* représentent l'essentiel des infections décrites. Cependant, les épidémies sont le plus souvent liées à la consommation de lait non pasteurisé ou bien d'eau du robinet impropre à la consommation. La contamination interhumaine, dans les crèches par exemple, a été rapportée mais semble être exceptionnelle, de même que la transmission par contact direct avec des animaux domestiques contaminés (chats, chiens, oiseaux), contrairement à ce qui se passe dans les pays en voie de développement *(tableau 2)*.

Tableau 2. Habitat des principales espèces de *Campylobacter* rencontrées en pathologie humaine.

Bactérie	Hôte préférentiel
C. jejuni	Oiseaux
C. coli	Porcs
C. fetus subsp. *fetus*	Bovins, ovins
C. lari	Mouettes
C. upsaliensis	Chiens
C. hyointestinalis	Porcs

Les cas sporadiques pourraient, en fait, correspondre à des épidémies régionales ou nationales que l'infrastructure actuelle de surveillance et les méthodes de typage ne peuvent détecter, ce qu'une étude récente en Islande semble montrer.

2.2. Incidence

L'incidence des infections digestives dues à *Campylobacter* est difficile à préciser car la recherche de ces bactéries n'est pas effectuée en routine pour toutes les coprocultures envoyées dans les laboratoires de bactériologie. De plus, certaines infections évoluant à bas bruit ne constituent pas un motif de consultation.

Toutefois, dans certains pays d'Europe occidentale où une surveillance épidémiologique existe au niveau de la population, une incidence de 50 à 100/100 000 est trouvée (l'incidence réelle étant estimée être 10 fois supérieure, soit environ 1 %). Cette incidence a augmenté ces dernières années sans que l'on puisse incriminer une amélioration des méthodes de détection.

En France, l'incidence des infections à *Campylobacter* n'est pas connue avec précision. Cependant, l'évaluation des souches transmises au Centre national de référence (CNR) provenant d'un réseau de 15 laboratoires, montre une incidence légèrement inférieure à celle de *Salmonella* spp. En Grande-Bretagne, où la surveillance des infections à *Campylobacter* est mieux organisée, les bactéries du genre *Campylobacter* arrivent constamment en tête des bactéries isolées lors d'infections intestinales.

Dans les pays développés, la plupart des cas surviennent chez les enfants *(figure 2)* avec une prédominance chez les garçons, qui se poursuit également à l'âge adulte. Une prédominance estivale est notée.

Dans les pays à faible niveau d'hygiène, les différents types de *Campylobacter* constituent une cause importante de morbidité chez les jeunes enfants. L'histoire naturelle de l'infection montre qu'il existe un taux élevé durant la première année de la vie, bien que les enfants nourris au sein semblent être protégés de l'expression clinique de l'infection qui ne survient qu'au sevrage. L'incidence peut atteindre 40 %, puis diminuer après l'âge de 3 ans, pour laisser place à un portage asymptomatique certainement en relation avec le développement d'une immunité secondaire suite à des contacts répétés avec *Campylobacter*, rencontrés de manière ubiquitaire dans l'environnement.

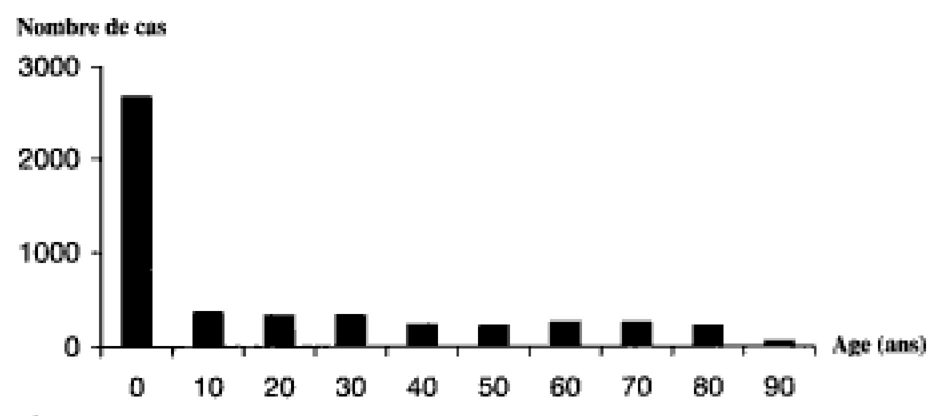


Figure 2. Évolution des taux de résistance de *C. jejuni* et *C. coli* aux quinolones (de 1988 à 1997).

3. Pathogenèse et immunité

3.1. Pathogenèse

Les deux mécanismes classiques de pathogénie connus au niveau intestinal, à savoir la production de toxines (cytotoxines et entérotoxines) et l'invasion des cellules épithéliales, ont été explorés.

L'infection à *C. jejuni* provoque une entérite inflammatoire affectant à la fois l'intestin grêle et le côlon. Des biopsies effectuées à ce niveau révèlent un œdème avec infiltration de la lamina propria de polynucléaires neutrophiles et de monocytes, ainsi qu'une destruction des cellules épithéliales. Dans certains cas extrêmes, l'aspect anatomopathologique peut se rapprocher de celui d'une maladie de Crohn.

Une toxine de type cholérique avait été suspectée mais, 16 ans après sa description, son existence est définitivement écartée. D'autres toxines ont été décrites : la principale est une toxine distendant le cytosquelette qui conduit à la mort cellulaire (CDT). Son implication en clinique humaine est toutefois encore incertaine.

Toutes les espèces de *Campylobacter* possèdent des flagelles qui contribuent à la mobilité de ces bactéries et donc à leur capacité à coloniser et infecter la muqueuse intestinale. *C. jejuni* a des propriétés d'adhérence modestes, mais il est capable d'envahir les cellules épithéliales, comme cela a été montré in vitro sur les cellules Caco2, et en accord avec les données in vivo. Ce mécanisme de pathogenèse n'est pas sans rappeler celui connu pour les bactéries des genres *Salmonella* et *Shigella*, bien que les événements moléculaires ne soient pas encore totalement élucidés.

3.2. Immunité

La sensibilité des bactéries du genre *Campylobacter* au pouvoir bactéricide du sérum est variable. *C. jejuni* y est très sensible, ce qui explique vraisemblablement que cette espèce soit rarement responsable de septicémie. À

l'inverse, *C. fetus* subsp. *fetus* est beaucoup plus résistant au pouvoir bactéricide du sérum et représente la majorité des souches isolées d'hémoculture.
Une réponse humorale apparaît secondairement aux infections dues à *Campylobacter*. Des *IgA*, *IgG* et *IgM* apparaissent en 5 j et atteignent un pic 2 à 4 semaines après le début de l'infection pour décliner ensuite en plusieurs mois. Les *IgA* sont les plus importantes des trois classes d'immunoglobulines du fait de leur possibilité de sécrétion au site même de l'infection. Les patients atteints d'hypogammaglobulinémie sont donc particulièrement exposés. Très peu de données sont disponibles concernant le rôle de l'immunité cellulaire dans le contrôle des infections à *Campylobacter*. Cependant, la forte prévalence d'infection à *Campylobacter* chez les patients infectés par le VIH suggère que cette immunité cellulaire joue un rôle.
Dans les pays en voie de développement, où les infections à *Campylobacter* sont hyperendémiques, l'incidence des infections et l'importance de la symptomatologie diminuent avec l'âge, en accord avec l'acquisition progressive d'une immunité au fur et à mesure des infections acquises. Des études chez des volontaires ont permis de confirmer l'existence d'une immunité de courte durée après une infection digestive à *C. jejuni*.

4. Présentations cliniques

4.1. Infections dues à *C. jejuni* et *C. coli*

Les manifestations cliniques des infections à *C. jejuni* sont extrêmement variées, allant du portage asymptomatique aux rares formes septicémiques mortelles. Vingt pour cent des malades impliqués dans des épidémies à *Campylobacter*, pour lesquels des prélèvements se sont révélés positifs, ne rapportent aucun symptôme. À l'autre extrême, un taux de mortalité de 4 ‰, dans les 30 j, est retrouvé au Danemark, ce qui représente une mortalité 1,9 fois supérieure à la normale (IC 95 % [1,7–2,2]). La proportion de cette surmortalité, attribuable uniquement à l'infection à *Campylobacter*, n'est que de 25 %. Cet excès de mortalité est en fait surtout retrouvé dans le groupe d'âge 30–39 ans, où l'infection au VIH en est un co-facteur.

4.1.1. Manifestations intestinales

4.1.1.1. Entérite à *Campylobacter*

L'entérite à *Campylobacter* est précédée d'une phase d'incubation d'une durée moyenne de 3 j (extrêmes de 18 h à 8 j), supérieure à la durée moyenne d'incubation d'autres entérites infectieuses. Cette caractéristique doit être prise en compte par le clinicien lors de son interrogatoire pour la recherche d'un aliment potentiellement contaminant.
L'importance de la symptomatologie dépendra de la virulence de la souche, de la dose infectante et de facteurs de susceptibilité individuels.
La diarrhée est le symptôme le plus fréquent des infections à *C. jejuni* (*tableau 3*). Elle peut être précédée de prodromes non spécifiques : crampe intestinale, myalgie, raideur de la nuque. Certains auteurs pensent que ces

Tableau 3. Répartition des signes cliniques observés lors d'entérites infectieuses à *Campylobacter* (données récupérées lors d'épidémies).

Symptôme	Moyenne en %
Diarrhée	85
Douleurs abdominales	80
Fièvre	51
Raideur de la nuque	44
Myalgies	40
Sang dans les selles	14
Vomissements	13

prodromes constituent un facteur prédictif de la sévérité de la maladie. De nombreux malades éliminent huit selles, voire plus, par jour (20 %, 15 selles/j). De la fièvre, des douleurs abdominales, des nausées et un malaise sont généralement associés à la diarrhée. La symptomatologie gastro-intestinale des infections digestives à *C. jejuni* et *C. coli* n'est pas cliniquement différente des infections digestives dues à *Salmonella* sp. et *Shigella* sp. Les douleurs abdominales peuvent être très importantes et dominer le tableau clinique, ce qui peut amener à pratiquer une laparotomie ou une appendicectomie. Les infections digestives dues à *Campylobacter* sont habituellement de gravité modérée et se résorbent classiquement en une semaine, même en l'absence d'antibiothérapie. Cependant, chez 20 % des malades, les symptômes peuvent persister pendant 1 à 3 semaines.

Le diagnostic définitif sera posé à partir de l'isolement d'une souche de *Campylobacter* dans les selles. Dans 75 % des cas, des leucocytes sont retrouvés dans les selles pendant 1 à 2 j, après l'apparition de la diarrhée, et dans 50 % des cas, la présence de sang et de mucus est notée. Cependant, comme la culture à la recherche de *Campylobacter* est vraisemblablement plus souvent prescrite lors de la présence de sang dans les selles, ce pourcentage est probablement surestimé.

L'entérite du nouveau-né et du nourrisson de 2 à 5 mois est en général d'intensité plus sévère. Cependant, elle se distingue par le fait que parfois, seule la présence de sang et de mucus est notée en l'absence fréquente de diarrhée et de fièvre.

4.1.1.2. Complications régionales

Les complications intestinales décrites sont diverses : hémorragie massive, appendicite, adénite mésentérique, mégacôlon toxique, colite pseudomembraneuse et cholécystite. Pour toutes ces complications, le problème du diagnostic différentiel se pose.

Chez des malades cirrhotiques, des péritonites à *Campylobacter* ont également été décrites.

4.1.2. Manifestations extra-intestinales

Les infections systémiques dues à *C. jejuni* sont rares par rapport aux manifestations intestinales : 0,4 % des isolats d'hémoculture selon le Center for Disease Control (CDC). Cependant, des bactériémies transitoires peuvent avoir lieu lors d'entérites infectieuses et passer inaperçues, d'autant plus que chez ces malades, les hémocultures sont rarement pratiquées. L'incidence de ces bactériémies est donc vraisemblablement sous-estimée. De plus, la sensibilité de *C. jejuni* au pouvoir bactéricide du sérum rend ces bactériémies certainement très brèves. Une revue de 120 dossiers du CNR, dont 12 % avaient un isolement d'un site de localisation secondaire surtout cardiovasculaire, a montré que des troubles digestifs étaient présents dans 40 % des cas et une pathologie sous-jacente notamment cirrhose, cancer, diabète, insuffisance rénale, infection par le VIH, dans 60 % des cas. Dix pour cent de ces malades sont décédés.

Les autres manifestations extra-intestinales incluent des localisations secondaires : méningites et arthrites purulentes.

4.1.3. Complications postinfectieuses

Des arthrites réactionnelles secondaires à des infections digestives dues à *Shigella* sp. et *Yersinia* sp. ont été décrites chez des patients du groupe HLA-B27. Elles sont également rencontrées suite à une infection symptomatique ou asymptomatique à *Campylobacter*. Ces arthrites sont cliniquement indifférenciées et la pathogénie en est encore inconnue. L'arthrite apparaît en moyenne 1 à 2 semaines après la diarrhée et, dans un tiers des cas, ne touche qu'une seule articulation.

Les infections à *Campylobacter* sont également impliquées dans l'érythème noueux et l'urticaire, sans pour autant, là aussi, que le mécanisme physiopathologique soit élucidé.

Mais, le syndrome de Guillain-Barré est la complication postinfectieuse due à *Campylobacter* la plus grave et dont la physiopathologie a été le mieux étudiée. La relation *Campylobacter*–syndrome de Guillain-Barré a été établie sur des critères sérologiques et culturaux. L'incidence estimée est de 1 ‰ infections à *Campylobacter*. Les sujets atteints du syndrome de Guillain-Barré ont, dans 30 à 50 % des cas, un taux élevé d'anticorps dirigés contre *C. jejuni* ; 20 à 40 % des patients concernés ont eu une infection à *Campylobacter*, 1 à 3 semaines avant l'apparition des troubles neurologiques. Il n'existe aucune relation entre la sévérité de la symptomatologie gastro-intestinale et l'éventualité de voir apparaître un syndrome de Guillain-Barré. La preuve étant apportée par le fait que ce syndrome peut apparaître chez des patients qui ont développé une infection à *C. jejuni* asymptomatique. Historiquement, les souches isolées appartenaient au sérogroupe O19 de Penner, Lior 7. Il a été démontré que la structure terminale du lipopolysaccharide (LPS) de ces souches était identique à la structure terminale du ganglioside GM1 de la gaine nerveuse. C'est l'un des meilleurs exemples de mimétisme moléculaire. Plus récemment, l'association avec d'autres sérogroupes a été décrite.

C. jejuni peut également être responsable, comme cela a été décrit chez les jeunes enfants du nord de la Chine, d'un syndrome dit *acute motor axonal neuropathy* (AMAN).

Enfin, de rares anémies hémolytiques et des encéphalopathies ont été signalées.

4.1.4. Infections à *C. jejuni* et immunodéficience

Les patients atteints d'hypogammaglobulinémie sont plus exposés aux infections graves et/ou récidivantes à *C. jejuni*. Un déficit des mécanismes d'opsonisation prédispose également aux bactériémies ainsi qu'aux autres infections extra-intestinales comme les ostéomyélites, méningites et cellulites. Une antibiothérapie précoce et adaptée à chaque présentation clinique est donc indispensable chez cette catégorie de malades.

Chez les sujets VIH positif, les infections à *C. jejuni* sont 40 fois plus fréquentes que dans la population générale, surtout dans les derniers stades de la maladie.

4.2. Infections dues à d'autres espèces de *Campylobacter*

Aux États-Unis, plus de 99 % des isolats correspondent à l'espèce *C. jejuni*. Cette très nette prédominance est certainement secondaire à l'emploi de certaines techniques de culture utilisées dans les laboratoires de bactériologie. Dans les laboratoires utilisant des milieux de culture sans antibiotiques (qui assurent normalement la sélectivité du milieu), la proportion d'espèces autres que *C. jejuni (tableau 4)* augmente pour atteindre ou dépasser 20 % des isolats.

4.2.1. Infections dues à *C. fetus*

Les infections digestives à *C. fetus* ont une présentation clinique similaire à celles que nous venons de décrire pour *C. jejuni*.

C. fetus est la principale espèce isolée d'hémocultures et d'infections extra-intestinales chez les patients immunodéprimés. Cette nette prédominance s'explique par sa résistance au pouvoir bactéricide du sérum, à l'opposé de celle des autres espèces. Ces bactériémies ont un point de départ essentiellement digestif bien que cette bactérie soit, paradoxalement, rarement isolée des selles. Une fièvre importante accompagne ces bactériémies qui ont pour conséquence un taux de mortalité élevé.

C. fetus a été isolé pour la première fois dans un cas d'avortement septique, ce qui lui a valu son nom. Ce type d'infection s'est révélé par la suite tout à fait exceptionnel.

Tableau 4. Répartition des différentes espèces de *Campylobacter* isolées de selles durant l'année 2000 (données du CNR).

Espèces identifiées	Pourcentage
C. jejuni	80,4
C. coli	14,4
C. fetus subsp. *fetus*	3,2
C. lari	0,5
C. upsaliensis	0,5
C. cryaerophila	0,5
Autres espèces	0,5

4.2.2. Infections dues à *C. upsaliensis*

C. upsaliensis est une espèce du groupe thermophile dépourvue de catalase. Elle est responsable de diarrhées chez les jeunes enfants et est également parfois isolée d'hémoculture de patients débilités ou immunocompromis. *C. upsaliensis* a tout d'abord été isolé chez le chien, qui constitue son principal réservoir. Dans certaines parties du monde comme en Afrique du Sud, *C. upsaliensis* constitue plus de 10 % des isolats. Il a également été associé, mais rarement, au syndrome de Guillain-Barré, à des syndromes hémolytiques et urémiques (SHU) ainsi qu'à des avortements spontanés.

4.2.3. Infections dues à *C. hyointestinalis* et *C. lari*

C. hyointestinalis, identifié en premier chez les porcs, a par la suite été décrit comme agent de diarrhées chez les jeunes enfants.

C. lari, dont le réservoir est constitué par les mouettes, peut être également isolé dans des cas de diarrhée ou de septicémie.

5. Diagnostic bactériologique des infections à *Campylobacter*

5.1. Prélèvements

Les échantillons de selles constituent les prélèvements de base à la recherche d'une entérite à *Campylobacter*. Les selles peuvent être stockées 24 h à + 4 °C si elles ne sont pas mises en culture immédiatement.

Les écouvillonnages rectaux sont également un moyen acceptable de diagnostic, à condition de les introduire dans un milieu de transport, type milieu de Cary-Blair.

En ce qui concerne les hémocultures, les nouveaux systèmes automatisés, type Bactec®, ont considérablement amélioré le diagnostic au laboratoire des bactériémies et septicémies à *Campylobacter*. Le bactériologiste doit être averti que ces bactéries n'entraînent pas obligatoirement un trouble dans le flacon d'hémoculture.

D'autres types de prélèvements peuvent être envoyés au laboratoire de bactériologie. Ils correspondent à la recherche de *Campylobacter* lors de localisations secondaires (liquide articulaire, liquide céphalorachidien, liquide péritonéal, etc.). Si le clinicien suspecte fortement la présence de *Campylobacter* dans ce type de prélèvements, il est important de le mentionner sur la prescription afin d'orienter rapidement le bactériologiste.

5.2. Examen microscopique

L'examen microscopique des selles à l'aide de la coloration de Gram ou au bleu de méthylène permet d'apprécier la présence de leucocytes fécaux et éventuellement de visualiser de petits bacilles incurvés, dits en « vol de mouette ». La négativité de ce test ne présage pas de l'absence de *Campylobacter* dans les selles.

Un examen direct entre lame et lamelle observé au microscope, à fond noir ou en contraste de phase, peut avoir tout son intérêt sur une suspension de selles et plus particulièrement à partir d'un flacon d'hémoculture suspect, afin d'observer des bacilles mobiles avec un aspect en « vol de moucheron » proche de celui que l'on observe avec *Vibrio cholerae*.

5.3. Mise en culture

La culture est la méthode de choix pour diagnostiquer l'infection à *Campylobacter*.

Des milieux d'enrichissement comme le milieu de Preston ont été utilisés pour l'isolement de *Campylobacter* à partir d'échantillons de selles. L'intérêt de ce type de milieu reste controversé, sauf dans le cas où l'on suspecte la présence d'une quantité faible de bactéries comme au décours d'une infection, s'il y a eu des problèmes d'acheminement au laboratoire, ou encore lors de la recherche de *Campylobacter* dans les aliments. Ces milieux seront incubés 24 h à 37 °C avant d'être repiqués sur milieu d'isolement.

Deux possibilités existent pour cultiver sélectivement les bactéries de genre *Campylobacter* à partir des selles : l'utilisation de milieux sélectifs ou d'une technique de filtration.

Les milieux sélectifs de choix sont les milieux au charbon, notamment le milieu de Karmali. D'autres milieux enrichis en charbon ont également été décrits : CSM, CCDA, Campy-CVA. Le milieu Campylosel de bioMérieux donne également de bons résultats. La sélectivité de tous ces milieux est assurée grâce à une combinaison d'antibiotiques et d'antifongiques : céfopérazone, vancomycine, polymyxine, amphotéricine. Le choix de la céphalosporine utilisée dans les milieux sélectifs est crucial. En effet, la céfalotine, initialement utilisée, s'est révélée inhibitrice pour certaines souches de *C. jejuni* et *C. coli*. De plus, elle ne permet pas l'isolement de *C. fetus, C. jejuni* subsp. *doylei* et *C. upsaliensis*.

La technique de filtration est une excellente technique à la portée de nombreux laboratoires de bactériologie. Elle donne de bons résultats à condition que la filtration se fasse sur un milieu fraîchement préparé. En éliminant les antibiotiques, elle permet la culture de bactéries autres que *C. jejuni* et *C. coli*, à condition que l'incubation soit faite à 37 °C et prolongée de 5 à 7 j, au lieu des 2 à 3 j habituels. Le taux de positivité est toutefois inférieur aux milieux sélectifs pour *C. jejuni* et *C. coli*.

Comme pour tout diagnostic bactériologique délicat, l'association de plusieurs méthodes de culture augmente les chances d'isolement. L'association d'un milieu sélectif avec une technique de filtration permet de se placer dans les meilleures conditions possibles pour isoler un *Campylobacter*.

La condition impérative est d'incuber les boîtes dans une atmosphère micro-aérobie soit dans une enceinte micro-aérobie, soit dans une étuve à débit gazeux réglable, soit dans une jarre sans catalyseur avec des sachets générateurs de H_2 et CO_2 à une température d'incubation de 37 °C pour tous les milieux. Un taux de 5 à 10 % de H_2 favorise la pousse.

5.4. Identification des espèces de *Campylobacter*

5.4.1. Identification à partir des colonies bactériennes

L'identification des bactéries au genre *Campylobacter* est fondée sur leur morphologie au Gram, la présence d'une oxydase et l'absence d'utilisation des sucres.

L'aspect au Gram de bacilles, à Gram négatif incurvés en forme de S, est très caractéristique de ce genre, à condition d'effectuer cette coloration à partir de colonies récentes, car des formes coccoïdes apparaissent sur les cultures vieillissantes.

Les espèces les plus fréquentes peuvent être identifiées sur la base de caractères phénotypiques simples notamment catalase, test à l'hippurate, sensibilité à la céfalotine, production d'H_2S, présence d'une nitrate réductase, et température optimale de croissance. La sensibilité à l'acide nalidixique a perdu de son intérêt depuis l'apparition de résistance acquise aux quinolones chez *C. coli, C. jejuni* et d'autres espèces (*tableau 5*).

Tableau 5. Caractères phénotypiques des espèces du genre *Campylobacter* et des bactéries apparentées.

	Pousse			Cat.	Ind.	Ure.	Hip.	Nali.	Céf.	Nit.	H_2S
	Air	25°	42°		Acet						(TSI)
Groupe thermophile											
C. jejuni subsp. *jejuni*	–	–	+	+	+	–	+	S**	R	+	–
C. jejuni subsp. *doylei*	–	–	–	+f/–	v	–	+	S	S	–	–
C. coli	–	–	+	+	+	–	–	S**	R	+	+f
C. lari	–	–	+	+	–	–	–	R	R	+	–
C. lari biovar UPTC	–	–	+	+	–	+	–	S	R	+	–
C. upsaliensis	–	–	+	+f/–	+	–	–	S	S	+	–
Groupe « fetus »											
C. fetus	–	+	v	+	–	–	–	R	S	+	–
C. hyointestinalis	–	v	v	+	–	–	–	R	S	+	+
Groupe anaérobie											
C. sputorum	–	–	+	–	–	–	–	R	S	+	+
C. mucosalis	–	+	+	–	–	–	–	R	S	+	+
C. concisus	–	–	+	–	–	–	–	R	R	+	+
*C. rectus**	–	–	+	–	+	–	–	S	nf	+	+
*C. curvus**	–	–	+	–	+	–	–	S	nf	+	+

*: oxydase négative ; ** : de nombreuses souches sont actuellement résistantes ; f : faible ; v : variable ; r : résistant ; S : sensible ; nf : non fait ; Cat. : catalase ; Ind. Acet : inodoxyl acétate estérase ; Ure. : uréase ; Hip. : Hippuricase ; Nali. : acide nalidixique ; Céf. : céfalotine ; Nit. : nitrate réductase ; H_2S en milieu TSI.

Des galeries miniaturisées sont disponibles et permettent l'identification de ces bactéries (Api Campy, bioMérieux). Cependant, lorsque le bactériologiste isole une espèce moins commune que *C. jejuni*, ou face à des espèces « variantes », des problèmes d'identification peuvent survenir.
Par exemple, il est très difficile de différencier un *C. coli* résistant à l'acide nalidixique d'un *C. lari*. De même, il a été décrit dans la littérature, des souches de *C. jejuni* hippurate négatif.
Si les caractères phénotypiques ou antibiotypiques ne permettent pas toujours de déterminer de manière précise l'espèce, l'application des techniques de biologie moléculaire permet à certains laboratoires spécialisés de conclure.
En effet, il existe peu d'homologie génotypique au sein du genre *Campylobacter* (souvent moins de 10 à 30 %). Ce fait a permis d'utiliser des sondes d'ADN total marquées et de réaliser une réaction de polymérase en chaîne (PCR) à l'aide d'amorces spécifiques d'espèce.

5.4.2. Détection et identification moléculaire

Des techniques de biologie moléculaire peuvent être utilisées directement dans les selles et permettent de coupler détection et identification. Ces techniques se heurtent toutefois au problème des inhibiteurs de la *Taq* polymérase et à celui de leur sensibilité.
Des techniques immuno-enzymatiques ont récemment été introduites, mais demandent à être validées à grande échelle.

5.5. Sérologie

Le rôle du diagnostic sérologique dans le diagnostic des infections à *Campylobacter* reste limité. Son intérêt concerne essentiellement les complications observées au décours des infections intestinales, notamment le syndrome de Guillain-Barré et les arthrites réactionnelles.
Des *IgG, IgA* et *IgM* apparaissent dans le sérum au décours d'une infection à *Campylobacter* et peuvent être détectées par technique de réaction de fixation du complément (Roche Virion) ou par Elisa.
La détection d'anticorps dans le liquide céphalorachidien (LCR) est réservée à certains laboratoires spécialisés et nécessite une étroite collaboration clinicien–biologiste pour son interprétation.

5.6. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

5.6.1. Recommandations pour la réalisation d'un antibiogramme de *Campylobacter* du CASFM

Les concentrations et les diamètres critiques des antibiotiques sur les bactéries du genre *Campylobacter* figurent dans le *tableau 6*.
Ces recommandations sont les suivantes :
– préparer un inoculum à partir d'une culture de 18–24 h en bouillon *Brucella* ou en solution saline (0,9 % NaCl) équivalent au point 0,5 de la gamme de McFarland ;
– ensemencer cette suspension sur gélose Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de mouton ou de cheval par technique d'inondation, ou par écouvillonnage après dilution au 1/100e de l'inoculum de départ. L'incubation se

Tableau 6. Concentrations critiques et diamètres critiques des antibiotiques sur les bactéries du genre *Campylobacter* (CASFM 2001–2002).

	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)	Diamètres critiques (mm)
Ampicilline	10 µg	≤ 4 > 16	≥ 19 < 14
Amoxicilline + AC	20–10 µg	≤ 4/2 > 16/2	≥ 21 < 14
Céfalotine	30 µg	≤ 8 > 32	≥ 18 < 12
Céfotaxime	30 µg	≤ 4 > 32	≥ 21 < 15
Imipénème	10 µg	≤ 4 > 8	≥ 22 < 17
Gentamicine	15 µg	≤ 4 > 8	≥ 16 < 14
Érythromycine	15 UI	≤ 1 > 4	≥ 22 < 17
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8 > 16	≥ 20 < 15
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 1 > 2	≥ 22 < 19
Tétracycline	30 UI	≤ 4 > 8	≥ 19 < 17
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8 > 16	≥ 23 < 19

fera à 35–37 °C pendant 18 à 24 h en atmosphère micro-aérobie ou anaérobie selon l'atmosphère optimale des souches.

La méthode de diffusion en milieu gélosé est généralement utilisée, bien que l'interprétation des résultats de sensibilité aux antibiotiques soit difficile face au manque de standardisation, et du fait de l'absence de concentration critique bien définie servant de base à l'interprétation.

La technique de diffusion en milieu gélosé ne permet de détecter que des résistances de haut niveau. En cas de doute sur l'interprétation d'un diamètre d'inhibition, il y a lieu de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) par une méthode de référence ou par toute autre méthode ayant montré, pour les antibiotiques concernés, son équivalence avec la méthode de référence, comme par exemple la technique du E-test.

5.6.2. *Campylobacter* et bêta-lactamines

Les bactéries de genre *Campylobacter* sont naturellement sensibles à l'ampicilline et à l'imipénème. L'acide clavulanique a, en lui-même, une action antibactérienne sur ces espèces. Une résistance naturelle à la pénicilline G, pipéracilline et céphalosporine (en particulier les céphalosporines de 3e génération) est due soit à une faible affinité de ces molécules pour les protéines liant les pénicillines, soit à un défaut de pénétration.

Les espèces de *Campylobacter* ont acquis des mécanismes de résistance enzymatique par l'intermédiaire de diverses bêta-lactamases non plasmidiques qui hydrolysent l'ampicilline, l'amoxicilline et la ticarcilline. L'acide clavulanique restaure dans tous les cas l'activité de ces molécules.

Tableau 7. Pourcentages de résistances de *Campylobacter* en France, année 2000 (données du CNR).

Antibiotique	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Amoxicilline	60	18,6	21,3
Érythromycine	95,6	0,8	3,6
Ciprofloxacine	77,7	0,8	21,5
Gentamicine	100	0	0
Doxycycline	87,4	6,3	6,3
Rifampicine	11,8	38,4	49,8
Métronidazole	14,5	2,9	82,6

5.6.3. *Campylobacter* et macrolides

Les macrolides sont les antibiotiques de choix dans le traitement des infections digestives à *Campylobacter*.

Si le bactériologiste décide de ne tester qu'un macrolide sur l'antibiogramme, son choix devra se porter sur l'érythromycine, car son activité répond pour les autres macrolides, en particulier pour la clarithromycine.

Le pourcentage de résistance à l'érythromycine est de l'ordre de 3 à 4 % en France *(tableau 7)*. En fait, il varie selon l'espèce et l'origine des souches. Les souches de *C. coli* isolées de porcs sont souvent résistantes du fait des traitements qu'ils reçoivent.

Le mécanisme de résistance des bactéries aux macrolides est dû à une mutation au niveau de l'ARNr 23S.

5.6.4. *Campylobacter* et quinolones

Certaines espèces de *Campylobacter* sont naturellement résistantes à l'acide nalidixique : *C. fetus* et *C. lari* pour les espèces les plus fréquentes. Cependant, cette résistance naturelle, qui a longtemps servi de critère d'identification, est devenue de moins en moins fiable depuis l'apparition de résistances chez les espèces réputées sensibles.

Les premières résistances acquises sont apparues entre 1986 et 1990. L'incidence actuelle de cette résistance concerne 30 % des souches en France *(figure 3)*, et en particulier 50 % des souches isolées chez les sujets infectés par le VIH. L'utilisation des fluoroquinolones en monothérapie dans le traitement de nombreuses infections, ainsi que l'utilisation dans l'alimentation animale de composés proches de la ciprofloxacine (enrofloxacine) expliquent cette augmentation très rapide.

Cette résistance acquise est liée à la présence de mutations au niveau de l'ADN gyrase, qui constitue la cible d'action des quinolones, et entraînent une résistance croisée entre quinolones et fluoroquinolones.

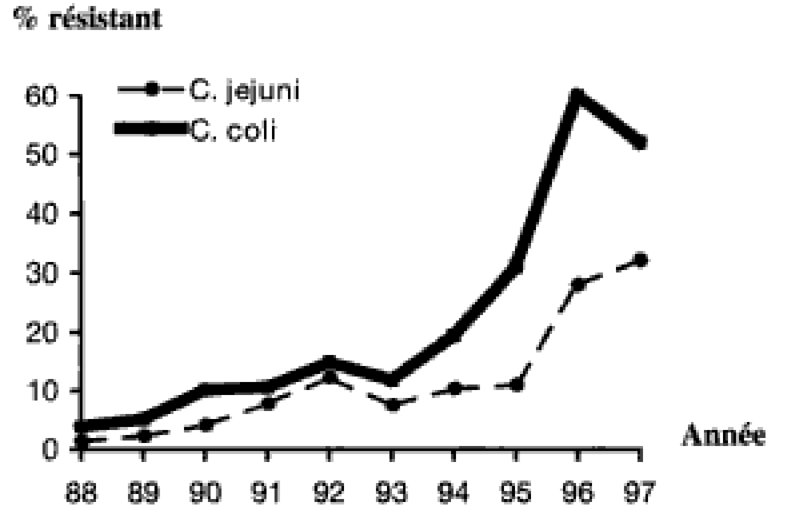


Figure 3. Nombre de cas à Campylobacter par tranche de 10 ans d'âge (de 1986 à 1997).

5.6.5. *Campylobacter* et aminosides

Les bactéries du genre *Campylobacter* sont toujours sensibles à la gentamicine.

Des souches résistantes par un mécanisme classique d'inactivation enzymatique sont décrites pour la kanamycine et la streptomycine.

5.6.6. *Campylobacter* et autres antibiotiques

Les espèces de *Campylobacter* sont naturellement résistantes aux glycopeptides, rifampicine, sulfamides, bacitracine et novobiocine.

Le taux de résistance aux tétracyclines des souches de *Campylobacter* en France est de 6,5 % (présence d'un gène plasmidique *tetO*). Cependant, des taux beaucoup plus élevés ont été décrits dans certains pays : États-Unis 48 %, Israël 70 %, Taiwan 85–95 %.

Des taux très importants de résistance sont également rapportés pour le métronidazole.

5.6.7. Antibiotiques et identification bactérienne

L'utilisation de deux marqueurs antibiotiques (sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine), ainsi que la production d'hippurate, permettent pour les souches sauvages de conforter le bactériologiste dans son identification d'espèce *(tableau 8)*. Toutefois, l'étude de la sensibilité à l'acide nalidixique a perdu beaucoup de sa valeur.

5.7. Typage génomique de *Campylobacter*

Le typage génomique de *Campylobacter* n'est réalisé que dans les laboratoires spécialisés.

Les méthodes les plus couramment utilisées sont :
- l'amplification par PCR du gène de la flagelline (*fla*-PCR) ;
- l'électrophorèse à champs pulsés (PFGE) ;

Tableau 8. Utilisation des marqueurs phénotypiques antibiotiques pour l'identification des espèces.

	Acide nalidixique	Céfalotine	Hippurate
C. jejuni	S*	R	+
C. coli	S*	R	-
C. lari	R	R	-
C. fetus subsp. *fetus*	R	S#	-

* Si la résistance est acquise à l'acide nalidixique, il est difficile sur un simple antibiogramme de différencier *C. coli* de *C. lari* ; # On considère la souche comme « sensible » dès qu'un halo d'inhibition existe, si petit soit-il.

– l'AFLP (*amplified fragment length polymorphism*);
– la RAPD (*random amplification polymorphic DNA*).

Le typage génomique de *Campylobacter* est un outil épidémiologique important lors d'épidémies.

Ces méthodes sont en cours de standardisation par un réseau européen de laboratoires (Campynet).

6. Traitement des infections dues à *Campylobacter*

De nombreux patients asymptomatiques ou paucisymptomatiques ne requièrent aucun traitement antibiotique particulier. Une réhydratation orale ainsi qu'une correction électrolytique sont parfois suffisantes.

Cependant, chez les malades pour lesquels la symptomatologie est importante (fièvre élevée, sang dans les selles, diarrhée importante), un traitement antibiotique instauré tôt réduit la durée d'excrétion de *Campylobacter* dans les selles. Les patients infectés par le VIH ou immunodéprimés, ainsi que les femmes enceintes, doivent recevoir un traitement antibiotique *(tableau 9)*.

Les macrolides, en particulier l'érythromycine et la clarithromycine pour les enfants, sont les antibiotiques de choix pour le traitement des entérites infectieuses à *Campylobacter*. Les macrolides sont bactéricides sur *Campylobacter*. Par ailleurs, les concentrations obtenues après administration orale dans l'intestin sont très supérieures aux concentrations minimales inhibitrices (CMI). La posologie adulte de l'érythromycine est de 500 mg, 2/j pendant 5 j. Chez les enfants, la posologie habituelle est de 40 $mg{\cdot}kg^{-1}{\cdot}j^{-1}$, en doses fractionnées pendant 5 j.

Dans le traitement des infections digestives chez l'adulte, les fluoroquinolones et tétracyclines peuvent être éventuellement utilisées. Le cotrimoxazole n'est jamais efficace.

Le traitement des infections systémiques associera une bêta-lactamine (amoxicilline ± acide clavulanique ou imipénème) avec un aminoside (de préférence la gentamicine). Si les fluoroquinolones sont actives sur la souche isolée, elles

Tableau 9. Traitements conseillés dans différentes situations cliniques.

Symptomatologie	Traitement
Diarrhée bénigne	Traitement symptomatique
Température élevée, sang dans les selles, diarrhée importante	Traitement antibiotique oral (macrolides)
VIH + Patients immunodéprimés Femmes enceintes	Traitement antibiotique oral
Septicémie	Bêta-lactamine + aminoside Fluoroquinolone + aminoside
Arthrite septique	Fluoroquinolone Fosfomycine
Méningite	Amoxicilline ou Imipénème + aminosides
Syndrome de Guillain-Barré	Pas de traitement antibiotique

permettent également, en association avec les aminosides, d'exercer une action bactéricide rapide.

Le traitement des localisations secondaires, en particulier les arthrites septiques, doivent faire appel à des antibiotiques à bonne pénétration tissulaire, comme les fluoroquinolones et la fosfomycine.

Le traitement des méningites à *Campylobacter* peut, en première intention, associer amoxicilline et aminoside. En cas de résistance à l'amoxicilline sur l'antibiogramme, on pourra utiliser l'imipénème à condition de prendre en considération les risques de convulsion.

Une antibiothérapie instaurée dans le traitement des complications non infectieuses à *Campylobacter*, et en particulier le syndrome de Guillain-Barré, ne modifie pas l'évolution de la maladie.

7. L'essentiel

Les infections intestinales dues à *Campylobacter* sont fréquentes dans les pays industrialisés. Dans les pays à faible niveau d'hygiène, elles constituent une cause importante de morbidité chez les jeunes enfants.

Les manifestations intestinales sont les plus fréquentes. Parmi les manifestations extra-intestinales dues à *C. jejuni* et *C. coli*, on trouve des bactériémies, des méningites, des arthrites purulentes et des complications postinfectieuses, au premier rang desquelles se situe le syndrome de Guillain-Barré.

Le diagnostic repose sur la culture utilisant des milieux sélectifs. L'incubation doit se faire en atmosphère micro-aérobie. L'identification s'appuie sur un ensemble de caractères phénotypiques simples : présence d'une catalase, test à l'hippurate, sensibilité à la céfalotine, production d'H_2S, température optimale de croissance. Des galeries miniaturisées sont disponibles. En cas de doute, les techniques de biologie moléculaire permettent de conclure.

Le traitement repose sur la réhydratation. Dans les formes sévères ou sur des terrains à risque, une antibiothérapie doit être initiée. L'antibiotique de choix est l'érythromycine (ou la clarithromycine).

8. Pour en savoir plus

Allos BM, Blaser MJ. Campylobacter jejuni and the expanding spectrum of related infections. Clin Infect Dis 1995 ; 20 : 1092-101.

Altwegg M, Burnens A, Zollingeriten J, Penner JL. Problems in identification of Campylobacter jejuni associated with acquisition of resistance to nalidixic acid. J Clin Microbiol 1987 ; 25 : 1807-08.

Black RE, Levine MM, Clements ML, Hughes TP, Blaser MJ. Experimental Campylobacter jejuni infection in humans. J Infect Dis 1988 ; 157 : 472-8.

Butzler JP, Dekeyser P, Detrain M, Dehaen F. Related vibrio in stools. J Pediatrics 1973 ; 82 : 493-5.

Karmali MA, Simor AE, Roscoe M, Gleming PC, Smith SS, Lane J. Evaluation of a blood-free, charcoal based, selective medium for the isolation of Campylobacter organisms from feces. J Clin Microbiol 1986 ; 23 : 456-9.

Linton D, Owen RJ, Stanley J. Rapid identification by PCR of the genus Campylobacter and five Campylobacter species enteropathogenic for man and animals. Res Microbiol 1996 ; 174 : 707-18.

Mégraud F. Campylobacter. In : Précis de bactériologie pratique. Paris : Éditions ESKA ; 2000.

Mégraud F, Elharrif Z. Isolation of Campylobacter species by filtration. Eur J Clin Microbiol 1985 ; 4 : 437-8.

Nachamkin I, Allos BM, Ho T. Campylobacter species and Guillain-Barré syndrome. Clin Microbiol Rev 1998 ; 11 : 555-67.

Nachamkin I, Blaser MJ. Campylobacter. 2e édition. Washington, DC : ASM Press, ; 2000.

Parkill J, Nren BW, Mungall K, Ketley JM, Churcher C, Basham D et al. The genome sequence of the food-borne pathogen Campylobacter jejuni reveals hypervariable sequences. Nature 2000 ; 403 : 665-8.

Snidjers F, Kuiper EJ, de Wever B, Hoek L van der, Danner SA, Dankert J. Prevalence of Campylobacter-associated diarrhea among patients infected with human immunodeficiency virus. Clin Infect Dis 1997 ; 27 : 1107-13.

Stonnet V, Sicinschi L, Mégraud F, Guesdon JL. Rapid detection of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from clinical specimens using the polymerase chain reaction. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995 ; 14 : 355-9.

Vandamme P, Falsen E, Rossau R, et al. Revision of Campylobacter, Helicobacter, and Wolinella taxonomy : emendation of generic descriptions and proposal of Arcobacter gen. nov. Int J Syst Bacteriol 1991 ; 41 : 88-103.

Vandamme P, Deley J. Proposal for a new family, Campylobacteraceae. Int J Syst Bacteriol 1991 ; 41 : 451-5.

Wassenar TM. Toxin production by Campylobacter spp. Clin Microbiol Rev 197 ; 10 : 466-76.

Wheeler JG, Sethir D, Gowden JM, Wall PG, Rodrigues LC, Tompkins DS, et al. Study of infectious intestinal disease in England, rates in the community presenting to general pratice and reportic to national surveillance. Br Med J 1998 ; 318 : 1046-50.

Yuki N, Taki T, Inagaki F, Kasama T, Takahashi M, Saito K, et al. A bacterium lipopolysaccharide that elicits Guillain-Barré syndrome has a GM1 ganglioside-like structure. J Exp Med 1993 ; 178 : 1771-5.

Pathovars d'*Escherichia coli* responsables de diarrhées infectieuses aiguës

Marc Grandadam, Jean-Louis Koeck, Rémy Teyssou

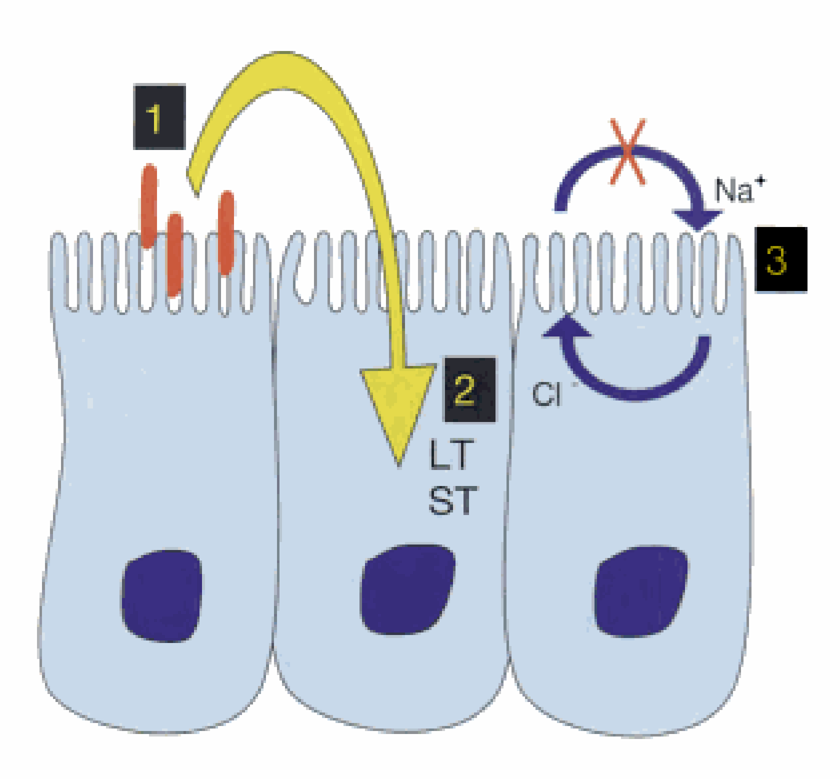


Vibrio cholerae ou *Shigella* sont des microorganismes à l'origine d'une seule maladie. Au contraire, les souches d'*Escherichia coli* peuvent être soit non pathogènes (c'est le cas de la majorité des souches : par exemple, *E. coli* colonise le tractus intestinal dès les premiers jours de la vie et devient ensuite la bactérie aérobie prédominante de la flore intestinale de l'homme adulte), soit impliquées dans des tableaux cliniques très variés, comme des diarrhées, des syndromes dysentériques, un syndrome hémolytique urémique (SHU), des infections urinaires ou des méningites. Ces souches pathogènes ont acquis des gènes qui leur permettent d'exprimer une virulence particulière.
Les souches d'*E. coli* associées aux diarrhées infectieuses aiguës représentent un groupe hétérogène correspondant à cette définition. Les souches sont classées en pathovars, en fonction de leur capacité d'attachement à la cellule eucaryote, de leur capacité à produire des toxines ou de leur propriété à envahir les cellules hôtes. On décrit aujourd'hui six pathovars :
– *E. coli* entérotoxinogène (ECET) : ECET touche les enfants vivant dans les pays à faible niveau d'hygiène, et est une cause classique de diarrhée du voyageur ;
– *E. coli* entéropathogène (ECEP) : ECEP représente une cause extrêmement importante de diarrhée infantile dans les pays à faible niveau d'hygiène ;
– *E. coli* entéro-agrégatif (ECEagg) : ECEagg est à l'origine de diarrhée persistante chez l'enfant ;
– *E. coli* entérohémorragique (ECEH) : ECEH est isolé dans certains pays industrialisés comme les États-Unis, l'Angleterre, le Canada ou le Japon ;
– *E. coli* entéro-invasif (ECEI) : ECEI sévit également dans les pays en voie de développement, et est responsable d'un syndrome dysentérique, cliniquement identique à celui causé par *Shigella* spp. ;
– *E. coli* dit à adhérence diffuse (ECAD) : il s'agit d'un pathovar récemment individualisé, isolé dans les pays à faible niveau d'hygiène et associé à des diarrhées persistantes chez l'enfant.
Les souches d'*E. coli* responsables de diarrhées infectieuses aiguës représentent un problème majeur de santé publique. Leur diagnostic est difficile car rien ne les distingue, sur le plan phénotypique, des souches d'*E. coli* commensales du tube digestif humain. Nous développerons ici : les mécanismes physiopathologiques de chacun des pathovars et les techniques qui permettent leur diagnostic.

1. Aspects cliniques et physiopathologiques

1.1. *E. coli* entérotoxinogène

Les ECET sévissent dans les pays à faible niveau d'hygiène et sont responsables de la majorité des cas de diarrhée du voyageur ou « tourista ». Sur le plan clinique, l'incubation est courte (14 à 48 h), avant que ne s'installe une diarrhée aqueuse invalidante, mais d'évolution rapidement favorable.
Les souches d'ECET possèdent un mécanisme de virulence similaire à celui décrit chez *Vibrio cholerae*. Elles adhèrent à la muqueuse intestinale et produisent une toxine à l'origine d'une diarrhée aqueuse, sans envahissement ni destruction de la muqueuse digestive *(figure 1)*.



1 – Production bactérienne des entérotoxines thermolabile (LT) et thermostable (ST).
2 – Pénétration des entérotoxines dans les entérocytes.
3 – Inhibition de la pompe à sodium par les entérotoxines.

Figure 1. *Escherichia coli* entérotoxinogène.

L'adhésion se fait par l'intermédiaire de pili. Deux types de pili ont été décrits : les pili de type I et les CFA I et II (*colonization factor antigens*). La multiplicité et la variété des facteurs d'adhésion font qu'ils ne peuvent être utilisés comme marqueurs diagnostiques.

Les souches d'ECET produisent deux toxines différentes : une toxine thermolabile (LT) et une toxine thermostable (ST). Il existe deux types de toxine LT : LT-I et LT-II. LT-I présente un haut degré d'homologie avec la toxine de *Vibrio cholerae* et leur organisation génétique est identique. Deux types de toxines ST ont également été décrites : STa (méthanone soluble) et STb (méthanone insoluble). La toxine STa et la toxine LT-I sont produites par les souches d'ECET, pathogènes pour l'homme. Les séquences génétiques codant ces toxines pourront donc être utilisées pour effectuer le diagnostic moléculaire de l'infection.

Le mécanisme d'action de la toxine LT-I est identique à celui de la toxine de *Vibrio cholerae* : il s'agit d'une holoprotéine constituée de deux sous-unités A et B. La sous-unité A est organisée en deux fragments I et II, et reliée par un pont disulfure. La partie B est constituée de cinq sous-unités identiques. À la surface de la muqueuse intestinale, la toxine se lie au ganglioside GM1 par l'intermédiaire de la sous-unité B. La sous-unité A est alors transloquée dans la cellule. La cible de la toxine A est une protéine de membrane, la protéine Gs, qui régule l'activité de l'adénylcyclase, contrôlant ainsi le taux d'adénosine-monophosphate cyclique (AMPc) dans la cellule-hôte. L'action de la toxine entraîne une accumulation d'AMPc à l'origine d'un déséquilibre ionique et d'une fuite liquidienne.

Les gènes qui codent LT-I et STa sont portés par des plasmides. Ils sont souvent trouvés en association avec les gènes codant les adhésines de type CFA.

1.2. *E. coli* entéropathogène

Les ECEP touchent essentiellement les enfants avant 2 ans. Entre 1940 et 1950, ils ont été à l'origine d'épidémies nosocomiales de diarrhées dans les services de pédiatrie des pays développés. Depuis, aucune manifestation épidémique due à des souches d'ECEP n'a été décrite chez l'enfant. Dans les pays à faible niveau d'hygiène, ils sont isolés dans 30 à 40 % des diarrhées infectieuses aiguës de l'enfant.
Sur le plan clinique, l'infection se traduit par une diarrhée aqueuse associée à des vomissements et à de la fièvre. Le taux de létalité est proche de 30 % chez le nourrisson.
Le mécanisme physiopathologique des diarrhées dues à ECEP est complexe. Les cellules de la muqueuse intestinale présentent à leur pôle apical des microvillosités qui leur permettent d'augmenter la surface d'échange avec la lumière intestinale. L'adhésion des ECEP aux cellules est à l'origine d'un phénomène particulier, qui se traduit par la disparition des microvillosités localisée à la surface de contact avec la bactérie, et par une élongation des microvillosités au niveau des espaces sans bactérie. Ce phénomène est appelé « attachement–effacement ». Il existe, de fait, une destruction de la bordure en brosse des entérocytes. En microscopie électronique, on observe la formation d'un « piédestal » à hauteur des lésions et du site d'adhésion de la bactérie. Ce piédestal correspond à une modification du cytosquelette sous l'influence de facteurs bactériens, avec une polymérisation des monomères d'actine. La séquence des événements qui entraînent les lésions a été étudiée sur des cellules HEp-2, mises en culture en présence d'ECEP *(figure 2)*. La première étape est une adhésion à la cellule hôte par les pili bactériens ou *bundel-forming pilus* (bfp), qui sont structurellement similaires au pili Tcp de *Vibrio cholerae*. La seconde étape déclenche un signal transductionnel associé qui active une tyrosine-kinase cellulaire entraînant une augmentation du Ca^{+} intracellulaire. La troisième étape est une adhésion plus forte à la cellule, accompagnée d'une déformation des microvillosités aboutissant à la formation du « piédestal ». Le gène bactérien impliqué dans ce processus est nommé *eae* pour *E. coli* attachement–effacement. Les souches d'ECEP portent un plasmide qui est essentiel pour l'adhésion bactérienne. Ce plasmide est appelé EAF (ECEP *adherence factor*), et les gènes codant bfp sont situés sur ce plasmide. L'adhésion des ECEP à la cellule hôte est liée à la production d'une protéine de 94 kDa, appelée l'intimine qui est codée par le gène *eaeA*. Il faut noter qu'il n'existe pas d'invasion de la cellule épithéliale et que la diarrhée est probablement due à l'atteinte des capacités d'absorption des cellules.
Les différents gènes bactériens impliqués dans ces mécanismes d'attachement–effacement peuvent servir de cible à l'identification moléculaire des souches.

1.3. *E. coli* entéro-agrégatif

Les ECEagg ont été plus récemment individualisés. Ils ont la propriété d'adhérer aux cellules épithéliales avec un phénotype particulier d'adhérence

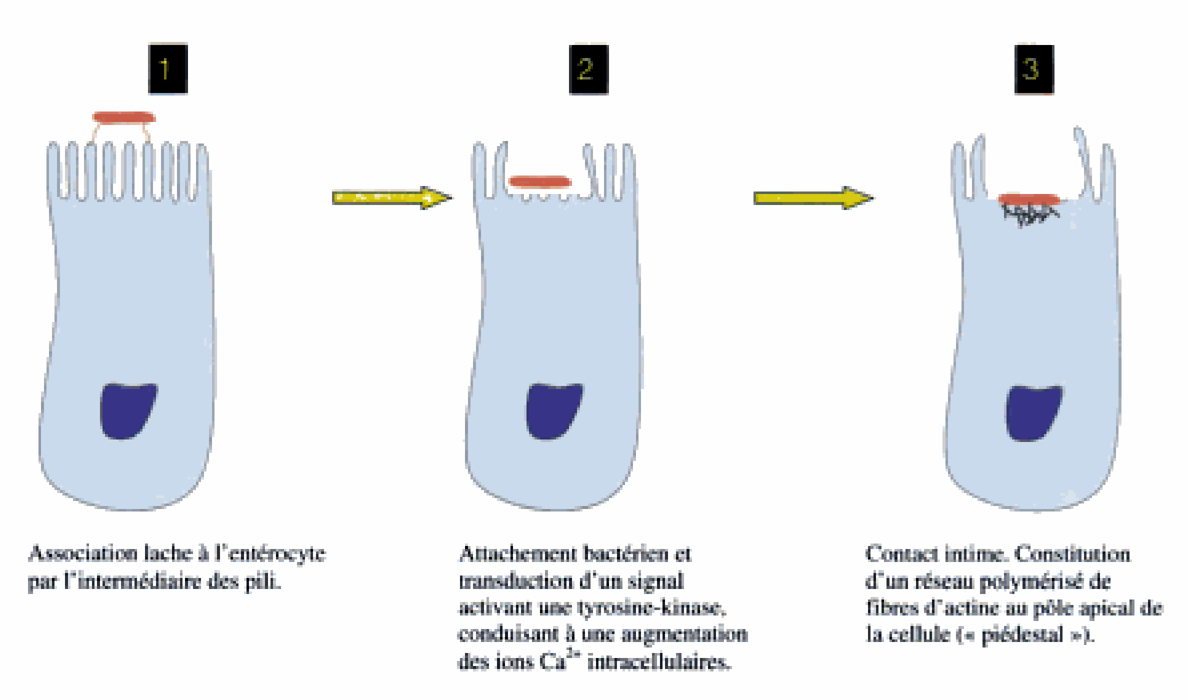


Figure 2. *Escherichia coli* entéropathogène.

localisée en agrégats. Ces souches sont caractérisées par la présence d'un plasmide de virulence qui porte les gènes permettant l'adhésion des bactéries aux entérocytes et les gènes codant des toxines.

Ces souches sont recouvertes de structures fibrillaires très fines (4 à 7 nm) nommées GVVPQ fimbriae. Les lettres correspondent à la composition en acide aminé de la séquence terminale de la protéine impliquée dans l'adhésion. Il est possible que ces structures permettent l'adhérence des bactéries entre elles, expliquant ainsi le phénomène d'agrégation. Un gène *eagg*, impliqué dans ce processus d'agrégation, a été récemment séquencé et peut être utilisé pour l'identification moléculaire.

Les souches ECEagg produisent une toxine *ST-like* et une exotoxine de 120 kDa, capable de former des pores dans la membrane de la cellule cible.

1.4. *E. coli* entérohémorragique

Les ECEH ont été impliqués dans des épidémies de diarrhées sanglantes qui touchent les pays développés. La première description a été rapportée en 1983. Il s'agissait d'une épidémie de colites hémorragiques et de SHU, décrites chez les enfants, aux États-Unis. Toutes les souches d'*E. coli* isolées étaient de sérotype O157:H7. Cette épidémie était associée à la consommation de viande de bœuf insuffisamment cuite dans les chaînes de fast-food (maladie « des hamburgers »). Depuis, de telles épidémies ont été décrites au Royaume-Uni, au Canada et au Japon. L'incidence annuelle aux États-Unis est de 20 000 cas.

Plus de 100 sérotypes d'ECEH ont été décrits, mais le sérotype O157:H7 reste associé aux phénomènes épidémiques.

Sur le plan clinique, après une incubation de 5 à 8 j, s'installe progressivement une diarrhée sanglante. Le risque majeur des infections à ECEH est le développement de complications, tels le SHU ou la colite hémorragique. L'évolution chez l'enfant se traduit par une létalité de 3 à 5 % et l'existence de séquelles rénales (10 à 20 %).

Sur les cultures cellulaires, les souches ECEH adhèrent et sont à l'origine de lésions de type attachement–effacement. Les souches ECEH possèdent un gène *eaeA* codant une intimine qui est identique au gène *eaeA* porté par les ECEP.

Par ailleurs, ces souches produisent une toxine qui est identique à la *Shiga like toxin* (Stx), à l'origine du SHU. L'effet principal de cette toxine (toxine de Shiga) s'exerce à hauteur de la vascularisation capillaire intestinale. Cette toxine est à l'origine de phénomènes ischémiques et hémorragiques, dont témoignent le tableau clinique et les complications. Deux groupes principaux de toxines ont été décrits : Stx1 et Stx2. Les gènes codant ces toxines ont été séquencés et sont utilisés pour le diagnostic des diarrhées dues à ECEH.

1.5. *E. coli* entéro-invasif

Les souches ECEI sont responsables de tableaux cliniques que l'on ne peut pas distinguer des infections dues à *Shigella* sp. Elles sévissent dans les pays à faible niveau d'hygiène où elles sont à l'origine d'épidémies. Dans les pays développés, elles peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires collectives (Tiac).

Sur le plan clinique, on trouve dans la majorité des cas une diarrhée aqueuse d'évolution rapidement favorable. Un syndrome dysentérique typique est présent dans 7 % des cas.

Les mécanismes de virulence et l'organisation génétique sont identiques à ceux observés chez *Shigella*. Ainsi, les gènes nécessaires pour l'invasivité sont portés par un plasmide. Les gènes principaux sont *mxi* et *spa* codant un système de sécrétion de type III. Les protéines ipa sont les effecteurs de ce système.

Chez la plupart des patients infectés par des souches de ECEI, un gène plasmidique dénommé *sen*, codant une protéine de 63 kDa, a été individualisé et séquencé. Il s'agit d'une entérotoxine, dont le rôle dans le mécanisme pathogénique de la diarrhée due à ECEI reste à démontrer. Ce gène peut être utilisé pour le diagnostic moléculaire.

1.6. *E. coli* à adhérence diffuse

Les ECAD sont une nouvelle catégorie de souches responsables de diarrhées aqueuses qui peuvent prendre un caractère persistant et qui touchent les enfants âgés de 2 à 6 ans. Ce phénotype particulier caractérise des souches ayant la capacité d'adhérer sur toute la surface des cellules Hep-2 ou HeLa.

Un ensemble de gènes, dénommés *afa*, code un système d'adhésion et d'internationalisation des ECAD dans les cellules épithéliales. Ces gènes peuvent être utilisés comme séquence cible pour le diagnostic moléculaire.

2. Diagnostic

2.1. Orientation et dépistage

Le contexte épidémiologique est particulièrement important pour orienter le diagnostic : notion d'épidémie, retour de voyage en pays tropical, Tiac.

Le contexte clinique (âge, terrain) doit être également pris en compte.

L'aspect macroscopique des selles est important : diarrhée sanglante, syndrome dysentérique, diarrhée aqueuse.

Les signes biologiques associés peuvent faire évoquer une étiologie particulière : hyperleucocytose dans les diarrhées dues aux ECEI par exemple.

Enfin, sur le plan bactériologique, les infections dues à *E. coli* se traduisent souvent par l'existence d'une flore monomorphe, essentiellement constituée de bacilles à Gram négatif, qui, en l'absence de pathogène plus classique comme *Shigella* sp., doit faire évoquer ce diagnostic et rechercher les pathovars.

Néanmoins, devant une suspicion d'infection due à un des pathovars, le bactériologiste se trouve devant le défi suivant : comment isoler une bactérie pathogène dont l'espèce représente plus de 90 % de la flore fécale aérobie commensale ?

2.2. Diagnostic

En règle générale, les caractères phénotypiques, en particulier l'identification biochimique, sont insuffisants pour caractériser les souches pathogènes, à quelques exceptions près :

– les souches *E. coli* entéro-invasives apparaissent typiquement lactose négatives, mais ce caractère reste insuffisant pour assurer le diagnostic ;

– les souches ECEH O157:H7 ne fermentent en 24 h ni le D-sorbitol, ni le rhamnose, contrairement à plus de 95 % de souches d'*E. coli* non pathogènes. Ces caractéristiques ont été utilisées pour le dépistage rapide de ce sérotype.

Le sérotypage tient une place particulière dans le diagnostic. *E. coli* est typé sur la base d'un antigène O (antigène somatique), d'un antigène H (antigène flagellaire) et d'un antigène K (capsule). Au total, 170 antigènes différents O ont été décrits, définissant des sérogroupes. La combinaison spécifique d'antigène O et d'antigènes H définit un sérotype. Ces sérotypes peuvent être, pour certains, associés de manière reproductible avec des syndromes cliniques *(tableau 1)*. Ces arguments expliquent la place importante du sérotypage dans l'histoire des pathovars d'*E. coli*. Cependant, les antigènes O et H ne sont pas eux-mêmes des facteurs de virulence et ne peuvent être utilisés en pratique, à l'exception du sérotype O157:H7 qui est indubitablement associé aux épidémies d'ECEH.

À côté du sérotypage, certains tests immunologiques commercialisés permettent de détecter les toxines. C'est le cas par exemple pour les ECET (détection de la toxine ST par technique immuno-enzymatique, ou agglutination de billes de latex) et pour les ECEH (détection de la toxine Slt directement dans les selles par des techniques immuno-enzymatiques).

Tableau 1. Principaux sérotypes caractéristiques des pathovars d'*E. coli* d'après Nataro et al.

Pathovar	Sérogroupe	Antigène H
ECET	O6	H16
	O8	H9
	O11	H27
	O15	H11
	O25	H42
	O27	H7
	O78	H11, H12
	O128	H7
	O148	H28
	O149	H10
	O159	H20
ECEP	O55	H6
	O86	H34
	O111	H2, H12
	O119	H6
	O125	H21
	O126	H27
	O127	H6
	O128	H2, H12
	O142	H6
ECEH	O26	H11, H32
	O55	H7
	O111	H8
	O113	H21
	O117	H14
	O157	H7
ECEagg	O3	H2
	O15	H18
	O44	H18
	O77	H18
	O111	H21
	O127	H2
ECEI	O124	H30
	O159	H2
	O167	H4, H5

L'infection de cellules en culture (HEP2 ou Hela) reste le « *gold-standard* » pour la caractérisation des ECEagg et ECAD. Cependant, ces tests restent de réalisation difficile et leur interprétation dépend des conditions opératoires : durée d'incubation, température, présence de CO_2. De nombreux résultats, même pour les équipes les plus entraînées, restent douteux ou ininterprétables.

Les techniques de biologie moléculaire apportent aujourd'hui une réponse qui permet de pallier ces difficultés diagnostiques. Elles consistent à mettre en évidence les gènes codant les facteurs de virulence qui caractérisent chaque

pathovar. Il ne s'agit donc plus ici de déceler l'effet « pathogène », mais de détecter les gènes qui confèrent la pathogénicité. De nombreuses techniques ont été mises au point et utilisées. Les premières ont été des techniques d'hybridation moléculaire. Aujourd'hui, par sa spécificité et sa sensibilité, la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) représente l'outil de choix pour la détection des pathovars d'*E. coli*. Nous donnons ici des séquences ciblées et des oligonucléotides qui sont utilisés dans notre laboratoire pour la mise en évidence des six pathovars, directement à partir des selles. Les principales séquences cibles sont décrites dans le *tableau 2*. L'utilisation de kit de préparation de l'ADN permet de travailler directement à partir des selles. On peut également procéder à partir des colonies isolées, après leur identification biochimique. Lorsqu'on choisit ces oligonucléotides, l'amplification permet de différencier facilement les six pathovars *(figure 3)*. Cependant, tous les gènes codant des facteurs de virulence ne sont pas encore identifiés et une meilleure connaissance de la pathogenèse est encore nécessaire pour améliorer ces techniques et pour les standardiser, afin qu'elles puissent être effectuées en dehors de laboratoires spécialisés.

Tableau 2. Séquences-cibles et oligonucléotides utilisables pour la PCR.

Pathotype (*reference strain*)	Séquence-cible	Oligonucléotides	Taille de l'amplicon (pb)
ECET (EDL1493)	STa	LR08 5'-CTGTATTGTCTTTTTCACCT-3' LR09 5'-GCACCCGGTACAAGCAGGAT-3'	182
	LT	LR06 5'-GCGACAGATTATACCGTGCT-3' LR07 5'-CGATACCATCCATATATCTG-3'	382
ECEP (EDL2348)	*bfpA*	LR10 5'-CAATGGTGCTTGCGCTTGCT-3' LR18 5'-CCACTATAACTGGTCTGCCC-3'	157
	eaeA	LR12 5'-CAAATTTAGGTGCGGGTCAGC-3' LR13 5'-GCACCTAATGCCGGGTATG-3'	269
ECEH (EDL933)	*sltI*	LR01 5'-GAAGAGTCCGTGGGATTACG-3' LR16 5'-AGCGATGCAGCTATTAATAA-3'	130
	sltII	LR14 5'-GTCTGTTATTAACCACACCC-3' LR15 5'-GCTCTGGATGCATCTCTGGT-3'	357
	eaeA	LR12 5'-CAAATTTAGGTGCGGGTCAGC-3' LR13 5'-GCACCTAATGCCGGGTATG-3'	269
ECEagg (17.2)	*eagg*	LR04 5'-CTGGCGAAAGACTGTATCAT-3' LR05 5'-GCCGATAGAAGATTATAGG-3'	223
ECAD (A30)	*afa*	LR02 5'-GTCAGCCCGTCATTTACCCTG-3' LR03 5'-ATCAAGCTGTTTGTTCGTCCGC-3'	331
ECEI (M90T)	*ipaH*	IpaH1 5'-GCTGGAAAAACTCAGTGCC-3' IpaH2 5'-CCAGTCCGTAAATTCATTC-3'	424
	sen	Sen1 5'-GGCTACAAACAATCCAG-3' Sen2 5'-GCTCATTCTTAGCCCCCCTC-3'	226

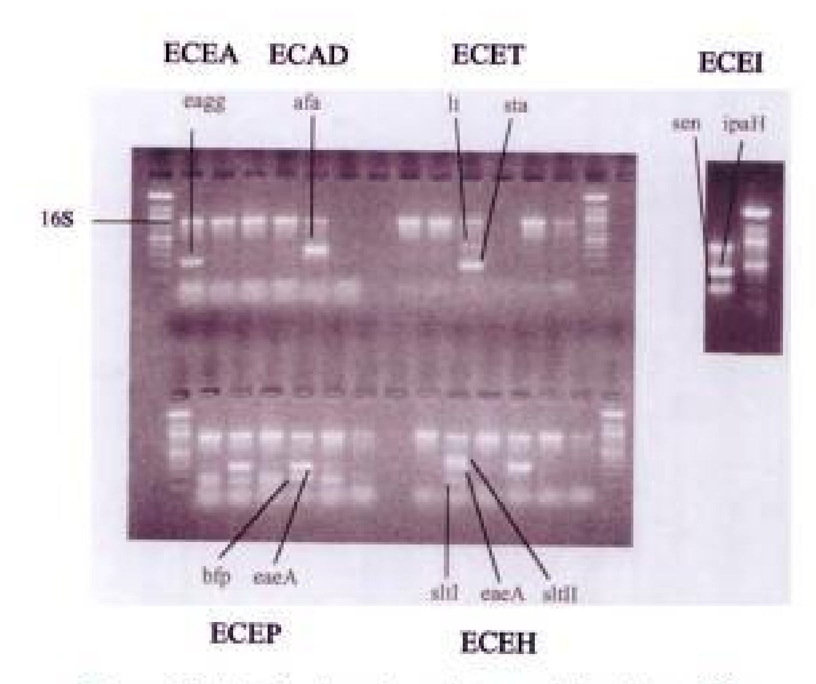


Figure 3. Identification des pathotypes d'*E. coli* par PCR.

3. Conclusion

Les différents types de *E. coli* responsables de diarrhées infectieuses aiguës sont un problème majeur de santé publique dans les pays en voie de développement. ECEH a été à l'origine d'épidémies meurtrières touchant les enfants dans les pays industrialisés. Ce pathovar est particulièrement lié aux modifications de l'alimentation et au développement des chaînes de restauration rapide.

Le diagnostic de ces pathovars est difficile. Les techniques phénotypiques sont délicates et souvent peu contributives. La biologie moléculaire permet un diagnostic rapide. Cependant, la complexité des mécanismes génétiques qui régulent la virulence de ces souches permet d'expliquer pourquoi ces techniques doivent encore évoluer, en particulier en ce qui concerne les séquences cibles, et pourquoi elles ne sont pas encore standardisées et mises à la disposition des laboratoires de biologie clinique.

4. Pour en savoir plus

Germani Y. Méthodes de diagnostic de laboratoire. Pouvoir entéropathogène des bactéries (*Escherichia coli* agents d'entérites). Paris : Institut Pasteur ; 1995.

Le Bougennec C. Diagnostic des différents pathovars de *Escherichia coli* responsables de diarrhées chez l'homme. Rev Fr Lab 1999 ; 314 : 33-7.

Nataro JP, Kaper BJ. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998 ; 11 : 142-201.

Diarrhées infectieuses aiguës

Clostridium difficile

Frédéric Barbut, Jean-Claude Petit



Depuis leur apparition en thérapeutique, les antibiotiques ont toujours été incriminés dans la survenue de certaines diarrhées iatrogènes de gravité variable. À l'heure actuelle, leur fréquence varie, selon les études, de 1 à 30 %. Le rôle de *Clostridium difficile* (bactérie anaérobie découverte en 1935 par Hall et O'Toole) dans les diarrhées postantibiotiques, fut reconnu à la fin des années 1970, par l'équipe de Larson (Angleterre) et celle de Bartlett (États-Unis). Ils démontrèrent l'existence d'une activité cytotoxique dans les selles de patients souffrant de colite pseudomembraneuse (CPM) postantibiotique. Dès lors, *C. difficile* est apparu comme un entéropathogène de première importance, responsable de plus de 95 % des cas de CPM et de 10 à 25 % des diarrhées postantibiotiques. Il est actuellement reconnu comme une cause majeure de diarrhées acquises à l'hôpital chez les patients adultes.

1. Données bactériologiques

1.1. Morphologie

C. difficile est un bacille à Gram positif, anaérobie strict et sporulé *(figure 1)*. Il mesure 3 à 15 µm de longueur et 0,5 à 2 µm de largeur. Certaines souches sont mobiles, grâce à une ciliature péritriche. La spore est terminale ou subterminale, peu déformante en général.

1.2. Culture

C. difficile se développe facilement sur milieu gélosé cœur–cervelle *(figure 2)*. Après 48 h d'incubation en atmosphère anaérobie, les colonies ont une taille de 5–10 mm de diamètre. Elles sont blanches, mates et à bords irréguliers. Observées à la loupe binoculaire, elles présentent un aspect de « verre brisé ». Elles dégagent une odeur caractéristique de « crottin de cheval ».

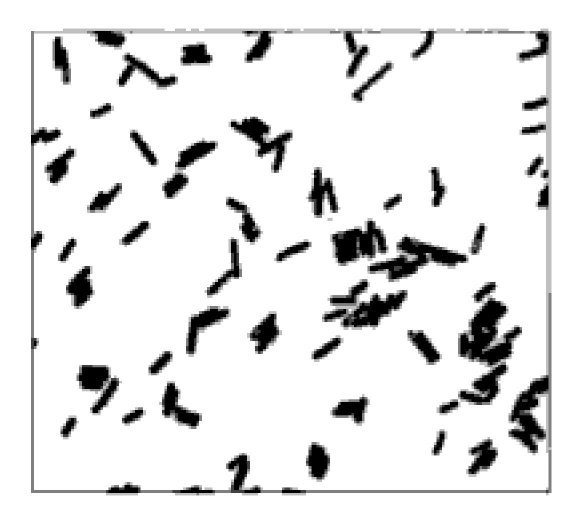


Figure 1. *Clostridium difficile* à la coloration de Gram (Gr x 1 000) avec présence de formes sporulées (spores subterminales peu déformantes) (cliché F. Barbut).



Figure 2. Colonies de *Clostridium difficile* sur milieu gélosé cœur-cervelle (cliché D. Decré).

1.3. Caractères biochimiques

C. difficile est dépourvu de phospholipase C, de lipase et de protéase. Il hydrolyse l'esculine. Il fermente de façon constante le glucose, le fructose et le mannitol.

Les caractères biochimiques permettant de distinguer *C. difficile* des espèces proches (*C. bifermentans* et *C. sordellii*) sont résumés dans le *tableau 1*.

Tableau 1. Caractères biochimiques permettant de différencier *Clostridium difficile, Clostridium sordellii* et *Clostridium bifermentans*.

	C. difficile	*C. sordellii*	*C. bifermentans*
Hémolyse	–	+	+
Production de :			
Lipase	–	–	–
Lécithinase	–	+	+
Uréase	–	+	–
Nitrate réductase	–	–	–
Indole	–	+	+
Hydrolyse de :			
Esculine	+	–	+
Gélatine	+ (en 48 h)	+ (en 24 h)	+ (en 24 h)
Fermentation du :			
Glucose	+	+	+
Fructose	+	V	–
Maltose	–	+ (ou faible)	– (ou faible)
Cellobiose	+ (ou faible)	–	–
Mannitol	+	–	–
Produits terminaux de fermentation	A, (p), ib, B, iv, (v), IC	A, (p), (ib), (iv), (ic)	A, (p), (ib), (b), (iv), (ic)

A : acide acétique ; IC : acide isocaproïque ; Lettres majuscules : pics majeurs ; B : acide butyrique ; P : acide propionique ; Lettres minuscules : pics mineurs ; C : acide caproïque ; V : acide valérique ; ( ) : pics pouvant être absents ; IB : acide isobutyrique ; IV : acide isovalérique.

Le métabolisme fermentaire produit des acides gras volatils dont le profil chromatographique en phase gazeuse est spécifique de *C. difficile (figure 3)*. En effet, *C. difficile* se caractérise par une production importante d'acide isocaproïque (> 33 % des aires sous pics).

1.4. Toxines

Certaines souches de *C. difficile* sont toxinogènes. Elles peuvent alors sécréter simultanément deux toxines : la toxine A (ou entérotoxine) et la toxine B (ou cytotoxine). Les deux toxines sont remarquables par leur grande taille (250 à 300 kDa, selon les auteurs) et leurs séquences d'acides aminés présentent 49 % d'identité. Ces toxines sont des protéines non dissociables en sous-unités et riches en acide aspartique, acide glutamique et glycine. Leur partie C-terminale, composée de séquences répétitives, serait impliquée dans la fixation aux entérocytes et leur partie N-terminale dans l'activité catalytique.
Les toxines A et B sont codées par les gènes *tcd*A (8133 pb) et *tcd*B (7098 pb) qui ont été clonés et séquencés. Ils forment avec trois gènes accessoires (*tcd*C, *tcd*D et *tcd*E) un locus de pathogénicité (PaLoc) de 19,6 kb. Chez les souches non toxinogènes, ce locus de pathogénicité est remplacé par une séquence de 115 pb.

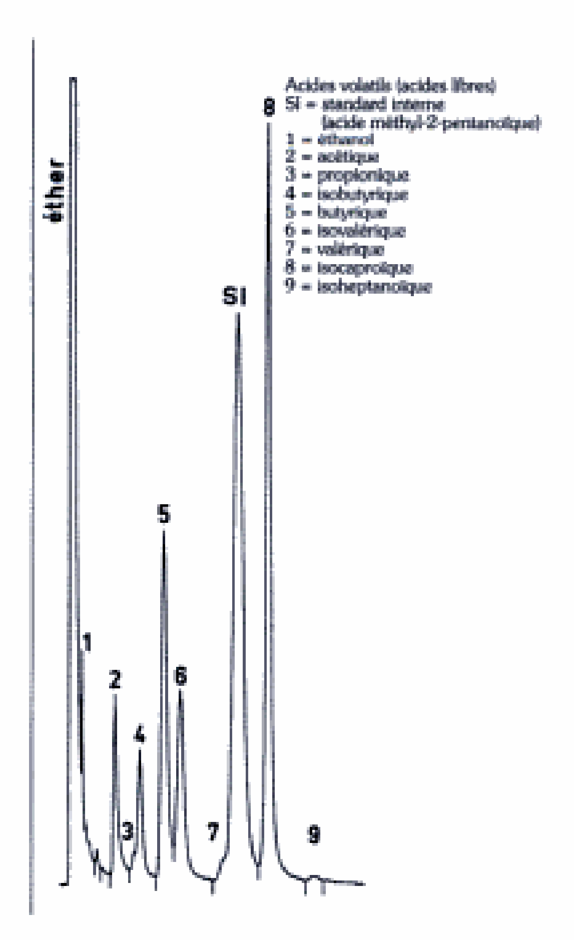


Figure 3. Profil chromatographique des acides gras volatils de *Clostridium difficile* par chromatographie en phase gazeuse (CPG) (cliché F. Barbut).

2. Données cliniques

Les présentations cliniques des infections digestives liées à *C. difficile* (ILCD) sont variables en terme de gravité et vont de la simple diarrhée à la CPM *(tableau 2)*. Dans plus de 90 % des cas, ces infections surviennent au cours ou au décours d'une antibiothérapie.

2.1. Colite pseudomembraneuse

Une CPM se manifeste par une diarrhée sévère et profuse, faite de selles hétérogènes en général non sanglantes. Elle survient, dans 60 % des cas, entre le 4[e] et le 9[e] j après le début du traitement antibiotique, mais peut aussi survenir dans les 6 semaines suivant son interruption. La diarrhée est accompagnée de fièvre modérée (75 %) et de douleurs abdominales (70 %). Les signes biologiques sont non spécifiques : hyperleucocytose (> 15 000/mm^3), déshydratation extracellulaire et hypocholestérolémie. Du fait de la gravité des complications (mégacôlon toxique, perforation intestinale), le diagnostic doit être porté en urgence. Il repose sur l'exploration endoscopique et la mise en évidence de pseudomembranes. Elles apparaissent sous forme de plaques jaunâtres éparses ou confluentes selon le stade de la maladie, siégeant sur une muqueuse normale ou érythémateuse *(figure 4)*. Ces pseudomembranes sont constituées de débris cellulaires, de mucus, de fibrines et de leucocytes. La rectosigmoïdoscopie permet de voir les pseudomembranes dans 90 % des cas de CPM, mais occasionnellement, elles peuvent siéger au niveau du côlon proximal ou du grêle. Le diagnostic différentiel avec la maladie de Crohn, la rectocolite hémorragique ou les colites à cytomégalovirus, reposent sur les examens anatomopathologiques.

2.2. Diarrhées simples postantibiotiques

Les diarrhées simples liées à *C. difficile* se manifestent par l'émission de trois à cinq selles molles ou liquides par jour ou par une simple modification de la consistance des selles. Les signes généraux sont le plus souvent absents. À l'endoscopie, le côlon peut être macroscopiquement normal, ou être le siège d'une colite segmentaire ou non, congestive, hémorragique ou ulcérée.

Tableau 2. Prévalence de *Clostridium difficile* et de ses toxines dans les selles de différentes populations.

Population étudiée	Taux d'isolement de *C. difficile* (%)	Présence de toxine B (%)
Patients atteints de CPM postantibiotique	95–100	95–100
Patients atteints de diarrhée postantibiotique	15–25	10–25
Patients asymptomatiques sous antibiotique	10–25	5–10
Adultes sains	< 3	< 1
Nouveau-nés sains	5–70	5–63



Figure 4. Image endoscopique de colite pseudo-membraneuse (cliché Y. Bouhnik).

L'arrêt de l'antibiotique en cause entraîne, dans 25 % des cas, une amélioration clinique en 2 à 3 j. Dans le cas contraire, la diarrhée peut devenir chronique, plus sévère, et un traitement spécifique par métronidazole ou par vancomycine est alors nécessaire.

2.3. *C. difficile* chez l'enfant

Chez les nouveau-nés et les enfants de moins de 6 mois, la pathogénicité de *C. difficile* reste très controversée. En effet, en dépit de la détection fréquente de *C. difficile* et des toxines dans les selles de nouveau-nés, ceux-ci ne présentent, le plus souvent, aucun signe clinique, ni lésion colique. L'absence de symptôme chez le nouveau-né pourrait être liée à une immaturité, à une absence des récepteurs des toxines, ou à la présence dans le lait maternel d'anticorps capables de neutraliser la liaison de la toxine A à son récepteur. Les cas de CPM sont exceptionnels avant l'âge de 2 ans. Néanmoins, chez le jeune enfant, les souches toxinogènes de *C. difficile* peuvent être responsables d'entérocolites chroniques ou récidivantes qui répondent à un traitement antimicrobien spécifique.

2.4. Rechutes

Les rechutes sont fréquentes (environ 20 %) et surviennent habituellement dans les 2 mois suivant le premier épisode. Ces rechutes sont dues soit à la persistance sous forme sporulée de la même souche dans le tube digestif (récidive), soit à l'acquisition d'une souche différente de la souche initiale (réinfection). Les rechutes peuvent devenir multiples, posant alors un véritable problème thérapeutique.

2.5. Portage asymptomatique

C. difficile est isolé chez moins de 3 % de la population adulte, et la présence de toxines dans les selles des patients asymptomatiques est exceptionnelle. Chez les patients hospitalisés, le portage asymptomatique est plus élevé (10–25 %) et traduit la fréquente acquisition nosocomiale de cette bactérie.

3. Données physiopathologiques

La pathogénie des ILCD requiert trois éléments indispensables : une diminution de la résistance à la colonisation, l'implantation de *C. difficile* et la sécrétion de ses toxines.
Les antibiotiques constituent le facteur déclenchant des ILCD dans plus de 90 % des cas. Ils détruisent la flore anaérobie de barrière et vont permettre à *C. difficile* d'adhérer à la muqueuse colique et de se multiplier. *C. difficile* peut avoir deux origines : endogène, c'est-à-dire faisant partie de la flore sous-dominante du sujet, ou exogène, c'est-à-dire ayant été acquis au cours d'une hospitalisation. Les perturbations induites par *C. difficile* ne surviendront que si le germe est toxinogène et est capable de sécréter, dans la lumière intestinale, ses deux toxines qui agissent au niveau des cellules entérocytaires. Des travaux ont montré que la toxine A pouvait se fixer sur un récepteur glycopeptidique contenant la séquence Galα1-3Galβ1-4GlcNAc, mais l'identité précise de ce récepteur chez l'homme n'est pas connue. Le récepteur de la toxine B n'a pas été identifié à ce jour, mais il semblerait qu'il soit ubiquitaire, compte tenu du nombre important de lignées cellulaires sensibles à son effet cytotoxique (cellules MRC-5, Vero, HeLa, Caco-2, etc.). Les deux toxines sont internalisées et subissent une maturation faisant intervenir un compartiment acide et une sérine protéase.
Les mécanismes d'action des toxines ont été étudiés grâce à différents modèles expérimentaux : iléocolite des rongeurs, modèle de l'anse ligaturée de lapin ou culture cellulaire. La toxine A possède une puissante action chimiotactique et pro-inflammatoire, entraînant une infiltration massive de la muqueuse intestinale par des polynucléaires neutrophiles et des cellules mononucléées. L'action sécrétoire de la toxine A serait liée à une augmentation de la sécrétion intestinale de chlore. Les deux toxines sont cytotoxiques : elles désorganisent le cytosquelette d'actine en inactivant les protéines régulatrices RhoA. En effet, grâce à leur activité glycosyltransférase, les toxines A et B catalysent le transfert du glucose de l'urine diphosphate (UDP)–glucose à la thréonine en position 37 de la protéine RhoA.
Si les toxines A et B constituent le principal facteur de pathogénicité, d'autres facteurs semblent jouer un rôle dans la virulence des souches : pouvoir d'adhésion des souches à la muqueuse, sécrétion d'enzymes hydrolytiques (hyaluronidases, chondroïtines sulfatases, collagénases, héparinases, neuraminidases, gélatinases), production d'autres toxines (par exemple, une adénosine-diphosphate (ADP)–ribosyltransférase spécifique de l'actine), etc.

4. Données épidémiologiques

4.1. Incidence des ILCD en médecine générale urbaine

L'incidence des ILCD en milieu communautaire est peu connue. Dans une récente étude prospective réalisée auprès de 266 patients ayant consulté leur médecin généraliste, Beaugerie et al. ont montré que les diarrhées liées à

C. difficile survenaient chez 1,5 % des patients traités par des antibiotiques. Compte tenu de la consommation d'antibiotiques, on peut estimer le nombre annuel de cas d'ILCD en France à environ 920 000.

4.2. Incidence des ILCD en milieu hospitalier

Les ILCD observées en milieu hospitalier ont deux origines : elles sont soit « communautaires » (la gravité des symptômes ayant nécessité une hospitalisation), soit « nosocomiales ». L'incidence globale des ILCD en milieu hospitalier est très variable selon les études, et oscille entre 1 à 40 ‰ des patients admis. Plus de deux tiers des cas sont d'origine nosocomiale. Les incidences les plus élevées ont été rapportées dans les services de soins intensifs, d'hématologie, d'oncologie ou de chirurgie. *C. difficile* peut être à l'origine d'épidémies, souvent difficiles à maîtriser. De nombreuses études ont montré que *C. difficile* représente le principal entéropathogène responsable de diarrhée infectieuse nosocomiale chez l'adulte.

4.3. Acquisition nosocomiale de *C. difficile*

Le taux d'acquisition nosocomiale de *C. difficile* a été estimé par des études qui ont recherché la bactérie de manière systématique dans les selles des patients à l'admission, puis 2 à 3 fois par semaine jusqu'à leur sortie. Il varie, selon les services et le type de patients, de 2,5 à 21 %. L'acquisition de *C. difficile* est donc fréquente en milieu hospitalier et l'utilisation de marqueurs génomiques a permis de mieux comprendre la circulation des souches de patient à patient. Cependant, dans plus de deux tiers des cas, cette acquisition reste asymptomatique.

4.4. Réservoirs et mode de transmission

Le réservoir de *C. difficile* est avant tout constitué des patients infectés par cette bactérie. La diarrhée contribue à une large dissémination de *C. difficile* dans l'environnement (sol, toilettes, tables de nuit, interrupteurs, poignées de porte) où il peut persister, sous sa forme sporulée, plusieurs mois et résister à de nombreux désinfectants.

Les patients asymptomatiques représentent également un réservoir de bactéries mais la dissémination de *C. difficile* est alors significativement plus réduite. En effet, au cours d'une étude prospective, le taux de contamination environnementale des chambres de patients souffrant de diarrhée à *C. difficile* a été évalué à 49 % alors que celui des chambres de patients porteurs asymptomatiques était seulement de 29 %.

La transmission de *C. difficile* s'effectue sur le mode féco-oral. Elle a lieu directement de patient à patient, ou indirectement via le personnel soignant ou l'environnement. *C. difficile* a été retrouvé sur les mains de 59 % du personnel soignant s'occupant de patients infectés par cette bactérie. Une contamination directe par voie digestive par l'intermédiaire de matériels contaminés (endoscopes, thermomètres) a été suggérée.

4.5. Facteurs de risque d'ILCD

4.5.1. Antibiothérapie

L'antibiothérapie constitue le principal facteur de risque d'ILCD. Les antibiotiques agissent en détruisant la flore anaérobie de barrière, facilitant ainsi l'implantation de *C. difficile*. À l'heure actuelle, pratiquement tous les antibiotiques ont été incriminés dans la survenue d'ILCD. Selon les résultats d'une récente méta-analyse, la clindamycine, les céphalosporines et l'ampicilline associée aux inhibiteurs de bêta-lactamases représentent les antibiotiques les plus risqués *(tableau 3)*. Il est paradoxal de constater que la prolifération de *C. difficile* au sein de l'écosystème microbien du côlon peut être induite par les antibiotiques auxquels il est sensible in vitro. Une des hypothèses pouvant expliquer ce paradoxe serait que la reconstitution de la flore de barrière serait plus lente que la prolifération de *C. difficile* à partir de formes sporulées. Si les cas de colonisation ou d'infection à *C. difficile* surviennent plus fréquemment après des traitements prolongés ou à la suite d'association d'antibiotiques, ils peuvent aussi avoir lieu après une dose unique (antibioprophylaxie).

4.5.2. Autres facteurs

L'âge (> 65 ans) a régulièrement été identifié comme un facteur de risque d'ILCD. Les raisons d'une plus grande prédisposition à la colonisation chez les patients âgés restent obscures. Une diminution de la réponse immunitaire ou une modification de la résistance à la colonisation ont été avancées mais demeurent hypothétiques.

La plupart des autres facteurs de risque identifiés (laxatifs, lavements barytés, anti-acides, ralentisseurs du transit, chirurgie gastro-intestinale, sonde nasogastrique) jouent un rôle en modifiant l'écosystème digestif ou la motilité intestinale. D'autres facteurs, telles la durée d'hospitalisation ou la sévérité de la maladie sous-jacente, témoignent de la lourdeur de prise en charge des patients qui favorise les contacts multiples avec le personnel soignant et augmente donc le risque de transmission d'une souche exogène de *C. difficile*. L'administration de chimiothérapie anticancéreuse, en l'absence de toute antibiothérapie concomitante, peut également entraîner des ILCD.

Il faut souligner que le portage asymptomatique de *C. difficile* ne semble pas constituer par lui-même un facteur de risque d'infection ultérieure à ce germe. Au contraire, la récente compilation de quatre études longitudinales (regrou-

Tableau 3. Classification des antibiotiques impliqués dans la survenue d'infections à *Clostridium difficile*.

Antibiotiques fréquemment incriminés	Antibiotiques peu fréquemment incriminés	Antibiotiques rarement incriminés
Ampicilline, Amoxicilline (+ acide clavulanique) Céphalosporines Clindamycine	Tétracyclines Sulfamides Triméthoprime Érythromycine Chloramphénicol Quinolones	Aminosides Métronidazole Vancomycine

pant 810 patients), au cours desquelles chaque patient admis à l'hôpital était suivi par des prélèvements rectaux, a montré que la colonisation asymptomatique par *C. difficile* était associée à une diminution du risque de diarrhée à ce germe. Le mécanisme de cette protection reste hypothétique et des études ultérieures seront indispensables avant de développer une stratégie thérapeutique.

5. Diagnostic

5.1. Diagnostic endoscopique

Le diagnostic des CPM est souvent établi par la mise en évidence des pseudomembranes lors de l'exploration rectosigmoïdoscopique. C'est une méthode très spécifique mais peu sensible car les pseudomembranes ne sont pas toujours présentes au stade précoce de la maladie. Elles peuvent être segmentaires et épargner le côlon distal.

Le diagnostic des infections intestinales à *C. difficile* est donc essentiellement biologique. Il repose sur différentes techniques : isolement et identification du germe sur des milieux sélectifs ou mise en évidence des toxines A ou B à partir d'un échantillon de selles. Les principes, les intérêts et les inconvénients des différentes méthodes diagnostiques sont résumés dans le *tableau 4*.

5.2. Diagnostic biologique

5.2.1. Transport et conservation des selles

Il est recommandé de maintenir les échantillons de selles dans un récipient hermétique à +4 °C. Si l'examen bactériologique doit être différé au-delà de 3 j, le prélèvement doit être congelé à –80 °C.

5.2.2. Examen microscopique

La coloration de Gram d'un frottis de selles peut mettre en évidence une flore déséquilibrée composée majoritairement de bacilles à Gram positif avec présence de formes sporulées. Bien que *C. difficile* soit un germe entérotoxinogène, il est fréquent (dans environ 60 % des cas) de retrouver des leucocytes dans les selles de patients atteints de diarrhées ou colites à *C. difficile*, mais la valeur prédictive positive de cet examen est faible.

5.2.3. Isolement et identification de *C. difficile*

5.2.3.1. Milieux de culture

C. difficile peut être isolé sur gélose sélective CCFA, milieu complexe contenant de la cyclosérine (250 mg/L), de la céfoxitine (8 mg/L), du fructose, du jaune d'œuf et du rouge neutre : la présence des antibiotiques permet l'isolement sélectif de 2 000 organismes parmi un total de $6 \cdot 10^{10}$ bactéries/g de selles. Certains auteurs ont remplacé le fructose et le jaune d'œuf par une gélose cœur–cervelle enrichie par 5 % de sang de mouton (milieu CCA modifié).

Des techniques de choc thermique ou de traitement par l'éthanol ont été proposées afin de sélectionner les spores de *C. difficile* résistantes à ces traitements. Elles se sont avérées moins sensibles que l'ensemencement direct sur

Tableau 4. Méthodes utilisées pour le diagnostic des infections digestives à *Clostridium difficile*.

Méthodes	Antigène détecté	Avantages	Inconvénients
Culture cellulaire	Toxine B	Sensibilité +++ (pg de toxine B) Spécificité +++ Méthode de référence	Long (minimum 48 h) Neutralisation de l'ECP* Absence de standardisation Infrastructure lourde
Tests Elisa classiques	Toxine A ou toxines A+B	Rapide (< 3h) Simple Spécificité +++	Sensibilité variable mais inférieure à la culture cellulaire Coût +++
Tests unitaires immuno-enzymatiques ou immunochromatographiques	Toxine A	Rapide (< 20 min) Tests unitaires Spécificité +++	Sensibilité équivalente à celle des méthodes Elisa classiques Coût +++
	Glutamate déshydrogénase (GDH)	Rapide (< 20 min) Tests unitaires Sensibilité +++	Peu spécifique (détection des souches toxinogènes et non toxinogènes) Coût +++
Agglutination de particules de latex	Glutamate déshydrogénase (GDH)	Rapide (< 20 min) Tests unitaires	Peu sensible Peu spécifique
Culture toxigénique	Isolement du germe et détermination de son pouvoir toxinogène in vitro	Sensibilité ++++ Permet d'étudier la sensibilité des souches aux antibiotiques Permet de typer les souches	Long (2 à 8 j) Peu spécifique (détecte les porteurs asymptomatiques de souches toxinogènes)
PCR	Détection des gènes des toxines A et/ou B	Sensibilité ++	Coût +++ Présence d'inhibiteurs de la *Taq* polymérase dans les selles Spécificité ?

* ECP : effet cytopathogène.

milieu sélectif. En revanche, l'addition de 0,1 % de taurocholate de sodium, de très haute pureté, à une gélose CCFA (milieu TCCFA) assure non seulement le même recouvrement des formes végétatives que le milieu CCFA, mais aussi une augmentation par un facteur 100 du taux d'isolement des spores. Ce milieu de culture serait utile dans les cas de diarrhées ou de colites à *C. difficile* traitées par vancomycine ou métronidazole, où le germe reste présent majoritairement sous forme de spores.

5.2.3.2. Identification

■ **Aspects macroscopique et microscopique**

Les milieux de culture (CCFA, CCA modifié ou TCCFA) sont incubés en atmosphère anaérobie (N_2 80 %, H_2 10 %, CO_2 10 %) pendant 48 h à



Figure 5. Colonies de *Clostridium difficile* sur milieu TCCA (cliché D. Decré).

37 °C. *C. difficile* apparaît sous forme de colonies de 5–10 mm de diamètre, plates, circulaires à bords irréguliers, blanches à grises, non hémolytiques *(figure 5)*. L'identification présomptive repose sur cinq caractères : le métabolisme anaérobie strict, l'aspect morphologique des bactéries à la coloration de Gram (bacille à Gram positif présentant une spore subterminale peu déformante, d'apparition assez rapide sur milieu solide), l'aspect de « verre brisé » des colonies à la loupe binoculaire, une odeur caractéristique (proche de celle du « crottin de cheval ») due à l'émission de crésol, et enfin une fluorescence vert chartreuse en lumière UV (360 nm).

■ **Caractères biochimiques**

L'identification peut être réalisée par l'analyse qualitative et quantitative des acides gras volatils (AGV) de *C. difficile* par chromatographie en phase gazeuse. Il est aussi possible d'utiliser des galeries d'identification, telles les galeries API 20A (bioMérieux, France) ou Rapid 32A (API, bioMérieux). Ces dernières permettent, après 4 h d'incubation en aérobiose à 37 °C, d'étudier l'équipement enzymatique de *C. difficile*. Les enzymes les plus fréquemment retrouvées sont une proline et une leucine arylamidase.

5.2.4. Mise en évidence de la glutamate déshydrogénase

La glutamate déshydrogénase (GDH) est un antigène spécifique de *C. difficile*. Elle peut être mise en évidence dans les selles *(tableau 5)*, soit par agglutination de particules de latex, soit par méthode immuno-enzymatique. Ces méthodes se présentent sous forme de tests unitaires et se caractérisent par leur simplicité et leur rapidité d'exécution. La sensibilité des tests immuno-enzymatiques pour le diagnostic d'ILCD est comprise entre 83 et 93 %. Il existe une très bonne corrélation entre la détection de la GDH et la culture bactérienne. Les tests d'agglutination de particules de latex sont moins sensibles que les tests immuno-enzymatiques. Cependant, l'interprétation du résultat doit être prudente car ces méthodes dépistent toutes les souches de *C. difficile*, y compris celles qui ne sont pas toxinogènes. Ces différents tests sont utilisés essentiellement comme méthodes de dépistage des selles positives à *C. difficile*.

Tableau 5. Principales trousses immuno-enzymatiques destinées au diagnostic de *Clostridium difficile*.

Nom	Fabricant	Distributeur	Agent dépisté	Caractéristiques
Bartels®	Baxter	Biotrin International	Toxine A	Elisa
Culturette® toxin-CD	Becton Dickinson	Becton Dickinson	Toxine A	Elisa
Tox A-test®	Techlab	Biowhittaker	Toxine A	Elisa
Premier®	Meridian	Gull	Toxine A	Elisa
Prospect II®	Alexon-Trend	?	Toxine A	Elisa
Vidas II®	bioMérieux	BioMérieux	Toxine A	Elifa (automate)
Ridascreen® A+ B	R-Biopharm	?	Toxines A + B	Elisa
Cytoclone® A+B	Meridian	Gull	Toxines A + B	Elisa
Tox A+B	Techlab	?	Toxines A + B	Elisa
Culturette Brand® CD	Becton Dickinson	Oxoid	GDH	Latex
Color-PAC®	Becton Dickinson	?	Toxine A	Immunochromato. (unitaire)
Toxine A® CD	Oxoid	Oxoid	Toxine A	Immunochromato. (unitaire)
ImmunoCard® CD	Meridian	Gull	GDH	EIA (unitaire)
ImmunoCard® toxine A	Meridian	Gull	Toxine A	EIA (unitaire)
Triage®	Biosite diagnostics	BMD	Toxine A + GDH	EIA (unitaire)

GDH : glutamate déshydrogénase ; EIA : *Enzyme ImmunoAssay* ; Elisa : *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay* ; Elifa : *Enzyme Linked ImmunoFluorescent Assay* ; Immunochromato. : test immunochromatographique.

5.2.5. Mise en évidence des toxines

Seules les souches toxinogènes de *C. difficile* sont pathogènes. Elles produisent simultanément les deux toxines, de sorte que la mise en évidence de l'une ou de l'autre peut être considérée comme un excellent marqueur de la présence de souche toxinogène. Cependant, une récente étude japonaise a rapporté une forte prévalence de souches ne sécrétant que la toxine B (variants « $A^- B^+$ ») et, dans le même temps, une étude américaine décrivait un cas de CPM du à une souche « $A^- B^+$ ». Ces souches ne sont pas dépistées par les trousses immuno-enzymatiques qui utilisent un anticorps monoclonal. La prévalence de telles souches « atypiques » semble faible en Grande-Bretagne et en France (3 %).

5.2.5.1. Recherche d'un effet cytopathogène dû à la toxine B

La recherche de la toxine B s'effectue par la détection d'un effet cytopathogène après inoculation d'un filtrat stérile de selle sur des cultures cellulaires. De nombreuses lignées cellulaires peuvent être utilisées : cellules fibroblastiques animales ou humaines (WI38, MRC-5, L929), cellules rénales (BHK21, AGMK, VERO), cellules CHO, MacCoy, HeLa ou Hep-2. Dans tous les cas, après 24 à 48 h d'incubation à 37 °C en atmosphère enrichie en CO_2, les cellules s'arrondissent, se détachent, augmentent de réfringence (effet de « globulisation » des cellules) *(figure 6)*. La sensibilité de la méthode est de l'ordre du picogramme de toxine, mais elle varie en fonction de la lignée cellulaire utilisée.

Les échantillons de selles peuvent contenir des substances cytotoxiques. La spécificité de l'effet cytopathogène observé doit être confirmée par sa neutralisation à l'aide d'un antisérum anti-*C. difficile* ou anti-*C. sordellii*. Ces antisérums ne sont pas actuellement commercialisés en France.

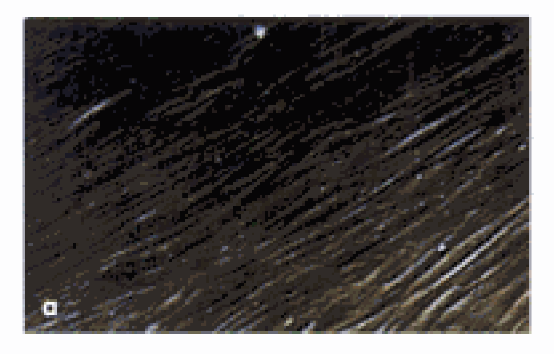
Le titrage de la toxine B ne présente aucun intérêt en pratique, puisque la quantité de toxines n'est pas corrélée à la sévérité de la maladie.

Simple à réaliser et facile à interpréter, le test de cytotoxicité est considéré comme la méthode de référence. Néanmoins, il se heurte à plusieurs écueils : absence de standardisation, infrastructure lourde (culture cellulaire) et difficulté d'approvisionnement en antitoxine non commercialisée en France.

5.2.5.2. Méthodes immuno-enzymatiques

De très nombreuses trousses immuno-enzymatiques de type Elisa sont actuellement commercialisées *(tableau 5)*. Ces trousses dépistent soit la toxine A seule, soit les deux toxines simultanément. La spécificité de ces tests est excellente (> 97 %), mais leur sensibilité varie, selon les études, de 52 à 95 %. Un résultat peut être obtenu en moins de 3 h, ce qui permet à la fois un traitement spécifique précoce et l'instauration rapide de mesures d'hygiène indispensables pour limiter la transmission nosocomiale de cette bactérie. Ces tests, malgré leur coût unitaire encore élevé, représentent une excellente alternative pour tous les laboratoires de microbiologie dépourvus de l'infrastructure nécessaire à la culture cellulaire.

Plus récemment, des tests immuno-enzymatiques ou immunochromatographiques unitaires détectant la toxine A en moins de 30 min (ImmunoCard®



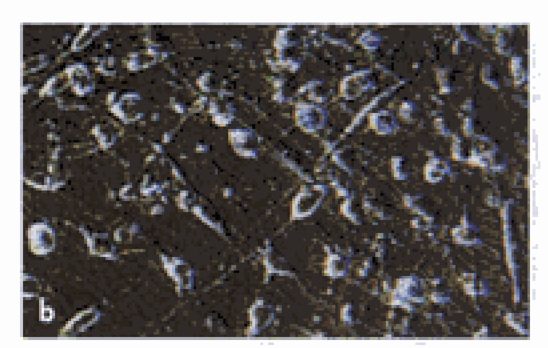


Figure 6. Culture de cellulles MRC-5 *(a)* et effet cytopathique de *Clostridium difficile* sur cellules MRC-5 (b)(Gx200) (clichés F. Barbut).

Toxine A, Color Pac®, Triage®) ont été commercialisés. Les premières évaluations laissent à penser que leurs sensibilité et spécificité sont équivalentes aux tests immuno-enzymatiques de type Elisa.

5.2.6. La *polymerase chain reaction*

La réaction de polymérase en chaîne (PCR) a été utilisée pour rechercher les gènes des toxines A ou B à partir d'échantillons de selles. Néanmoins, ces méthodes restent du domaine de la recherche et leur application en microbiologie clinique est encore très limitée. La mise au point de techniques de PCR à partir de selles est difficile compte tenu de la présence de nombreux inhibiteurs de la *Taq* polymérase.

5.2.7. Diagnostic sérologique

Il est possible de mettre en évidence des anticorps sériques antitoxines (s) par réaction de neutralisation de l'effet cytotoxique ou par technique Elisa. L'interprétation d'une sérologie est difficile car les *IgG* sériques antitoxines A et B sont détectées chez deux tiers de la population normale. Par ailleurs, lors d'une infection symptomatique, une augmentation du titre des *IgG* sériques antitoxine A est notée dans seulement 11 à 68 % des cas, et une élévation des *IgG* antitoxine B dans 44 à 71 % des cas. Ainsi, en pratique courante, la sérologie ne présente que très peu d'intérêt et, à notre connaissance, aucun laboratoire ne la réalise en France.

5.2.8. Stratégie diagnostique

Le diagnostic optimal des ILCD est obtenu en associant deux méthodes différentes : d'une part, une méthode permettant la détection directe des toxines A ou B dans les selles (test de cytotoxicité ou test immuno-enzymatique) et d'autre part, la culture bactérienne. En cas de résultat négatif en toxine et d'isolement d'une souche de *C. difficile*, il est alors nécessaire de déterminer le pouvoir toxinogène de la souche in vitro.

En effet, la culture toxigénique (c'est-à-dire l'isolement de la bactérie à partir des selles, puis la détermination de son pouvoir toxinogène in vitro) est sans doute considérée, à l'heure actuelle, comme la méthode la plus sensible. De nombreuses études ont en effet montré qu'elle pouvait identifier de vraies diarrhées ou colites à *C. difficile* alors même que les toxines A ou B n'étaient pas détectables dans les selles. Néanmoins, la culture toxigénique est une méthode longue, peu adaptée à la routine d'un laboratoire et à l'urgence de certaines situations.

6. Traitement

6.1. Arrêt de l'antibiothérapie responsable

La première étape du traitement d'une ILCD est, si possible, l'arrêt de l'antibiotique responsable, ou tout du moins son changement pour un antibiotique à moindre risque.

Les agents antipéristaltiques (diphénoxylate et atropine) ne sont pas recommandés car, en réduisant le débit diarrhéique, ils favorisent la stase intestinale et la rétention toxinique.

6.2. Traitements antibiotiques

Dans le cas où les symptômes sont sévères ou persistants, s'ils surviennent chez un patient fragilisé (patient leucopénique, personne âgée), ou si l'interruption de l'antibiotique responsable n'est pas envisageable, un traitement spécifique est alors nécessaire. Celui-ci repose en première intention sur le métronidazole et, dans certains cas, sur la vancomycine *(tableau 6)*.

6.2.1. Métronidazole

Les différentes études cliniques ont montré une efficacité du métronidazole, à la posologie de 250 mg, 4/j pendant 10 j, de l'ordre de 95 % équivalente à celle de la vancomycine. Son prix de revient étant environ 30 fois inférieur à celui de la vancomycine, le métronidazole est recommandé à l'heure actuelle comme le traitement de première intention des diarrhées simples et des colites peu sévères à *C. difficile*. Du fait de son absorption rapide par la muqueuse digestive, le métronidazole peut être retrouvé dans le sang et être responsable d'effets secondaires (nausées, vomissements, goût métallique, éruption ou rash cutané, effet antabuse lors de prise d'alcool, neuropathie périphérique en cas de traitement prolongé). Environ 3 % des souches *de C. difficile* présentent une sensibilité diminuée au métronidazole (concentrations minimales inhibitrices [CMI] comprises entre 8 et 32 mg/L), mais aucun échec clinique n'a pu être formellement relié à la résistance de *C. difficile* à cet antibiotique.
Dans le cas où l'administration per os est difficile ou impossible (iléus, vomissements ou chirurgie abdominale récente), le métronidazole peut être administré par voie intraveineuse (500 mg/6 h). L'élimination biliaire de cette molécule et son exsudation dans la lumière du côlon à partir du compartiment sanguin, sont suffisantes pour atteindre des taux thérapeutiques dans la lumière intestinale.

Tableau 6. Antibiotiques utilisés pour le traitement des infections digestives liées à *Clostridium difficile*.

Molécule	Posologie	Indications	Commentaires
Métronidazole (MTZ)	250 mg 4/j, 10 j ou 500 mg IV*/6 h	Traitement de 1[re] ligne pour les diarrhées simples et colites peu sévères	Effets secondaires (nausée, vomissement, goût métallique...) 3 % des souches présentent une sensibilité intermédiaire au MTZ
Vancomycine (VA)	125 mg 4/j, 10 j	Colites sévères ou fulminantes Intolérance au MTZ Échec du MTZ	Absence d'effet secondaire (pas d'absorption digestive) Absence de souche résistante Prix élevé Risque potentiel d'émergence d'entérocoques résistants à la vancomycine

* IV : intraveineuse.

6.2.2. Vancomycine

L'efficacité de la vancomycine dans le traitement des colites ou diarrhées liées à *C. difficile* est estimée à 96 % dans la majorité des études ouvertes. Au cours d'une étude prospective randomisée en double aveugle, le traitement par 125 mg, 4/j pendant 10 j, a été montré aussi efficace que 500 mg, 4/j pendant 10 j en terme de taux de réponse, durée des symptômes, persistance de *C. difficile* dans les selles ou rechutes après arrêt du traitement. Compte tenu du prix d'un traitement par vancomycine et du risque potentiel d'émergence d'entérocoques résistants à cet antibiotique, les indications d'un traitement par la vancomycine sont limitées soit aux patients présentant une symptomatologie très sévère, soit à ceux qui ne répondent pas au métronidazole ou qui présentent une intolérance à cet antibiotique. Administrée per os, la vancomycine n'est pratiquement pas absorbée par la muqueuse digestive et n'induit pas les effets secondaires otoxiques et néphrotoxiques pouvant être observés lors d'un traitement intraveineux.

6.2.3. Autres traitements

La téicoplanine (100 à 200 mg, 2/j) a montré une efficacité clinique équivalente à celle de la vancomycine.
La bacitracine présente une bonne activité in vitro sur *C. difficile*, et est faiblement absorbée par la muqueuse digestive. Cependant, les résultats des études cliniques ont été décevants, montrant une efficacité de l'ordre de 83 % et surtout un taux de rechutes élevé, supérieur à 34 %.
L'acide fusidique (0,5 à 1 g/j, pendant 7 à 10 j) a été utilisé avec succès pour traiter certains cas de diarrhées ou colites à *C. difficile*, mais l'expérience clinique reste limitée.
Les résines échangeuses d'ions (colestipol, cholestyramine) ont la propriété de fixer les toxines de *C. difficile* sans modifier l'écologie de la flore digestive, et représentent une alternative au traitement par les antibiotiques. Leur efficacité clinique reste inférieure à 68 %. C'est pourquoi ces molécules ne sont pas indiquées comme traitement de première intention.

6.2.4. Rechutes à *C. difficile*

Les rechutes (ou récurrences) des ILCD sont observées dans environ 10 à 20 % des cas après l'arrêt du traitement. La fréquence des rechutes est similaire après un traitement par vancomycine ou métronidazole. Elles surviennent généralement de 1 à 3 semaines après l'arrêt de l'antibiothérapie (rechutes précoces), voire quelques mois (rechutes tardives). Le diagnostic d'une rechute repose sur des arguments cliniques (signes digestifs) et bactériologiques (présence de toxines dans les selles).
Une rechute répond bien, en général, à une nouvelle cure identique au traitement initial (vancomycine, métronidazole ou même simple arrêt de l'antibiotique responsable). Cependant, certains patients présenteront des récurrences multiples (> 6) posant un véritable problème thérapeutique. Aucune approche consensuelle n'existe pour ces patients. Plusieurs schémas thérapeutiques ont été proposés pour le traitement des rechutes multiples :
– antibiothérapie prolongée et intermittente (« pulse ») de vancomycine (qui permettrait, en théorie, d'éradiquer progressivement toutes les formes sporulées de *C. difficile*) ;

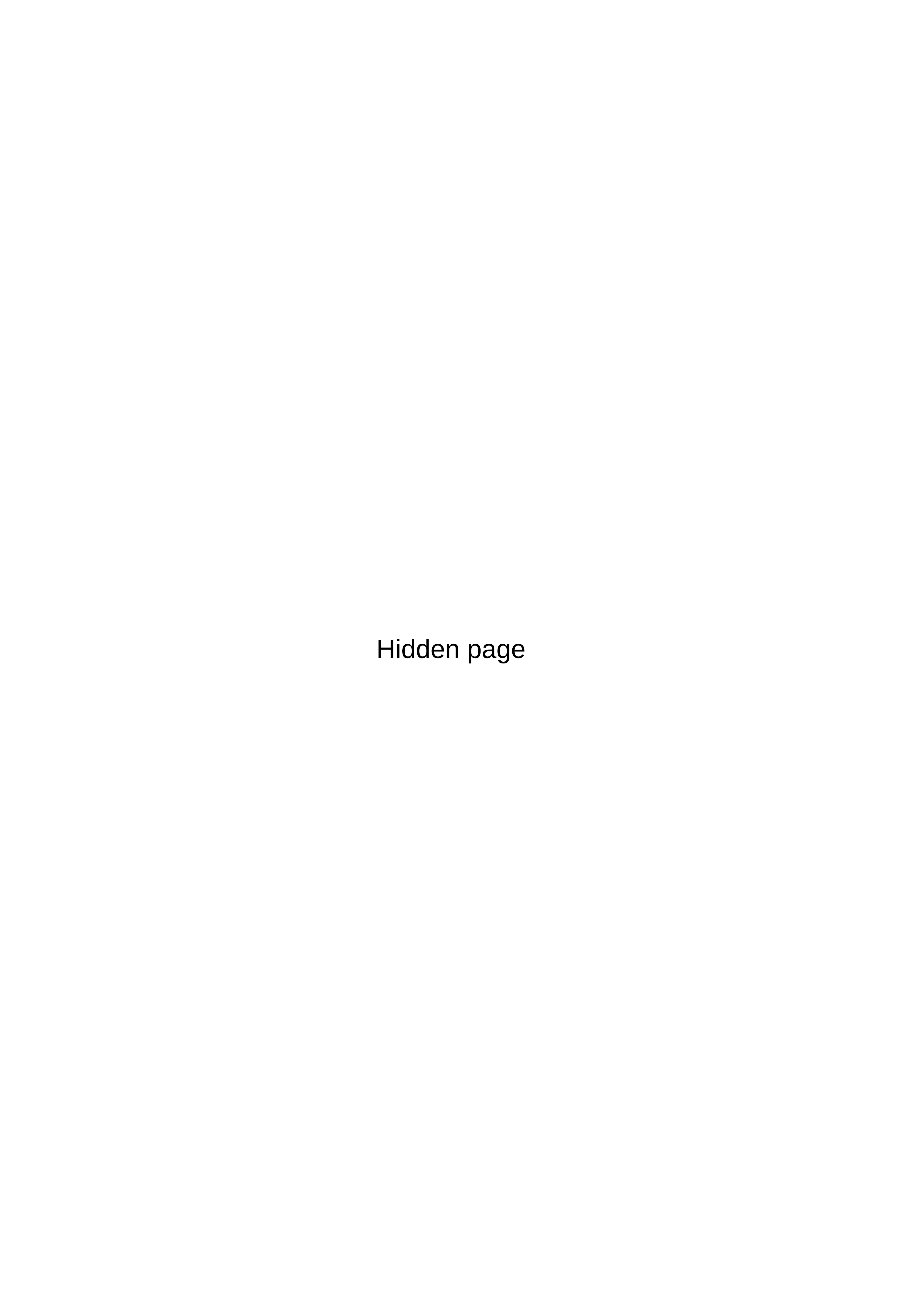
– administration de cholestyramine (4 g/6 h) après un traitement par vancomycine ;
– administration de probiotiques (*Lactobacillus* GG, *Saccharomyces boulardii*) en association avec des antibiotiques. Ces probiotiques permettraient la reconstitution de la flore de barrière colique et empêcherait la croissance de *C. difficile*. Un essai multicentrique randomisé en double aveugle contre placebo, a révélé que l'administration d'une antibiothérapie standard (vancomycine ou métronidazole), au cours d'une première rechute, en association à *S. boulardii*, diminuait de 50 % le taux de rechutes ultérieures (35 % vs 65 %, $p = 0{,}004$) ;
– injection de gammaglobulines riches en anticorps antitoxine A.

7. Prophylaxie

La prévention des infections croisées repose, en premier lieu, sur l'identification des patients atteints d'ILCD, afin de pouvoir instaurer les mesures d'hygiène nécessaires. Cela suppose, de la part du clinicien, une meilleure sensibilisation aux pathologies liées à *C. difficile* et sa recherche plus systématique devant toute diarrhée nosocomiale et, de la part du microbiologiste, la mise en place de techniques diagnostiques, rapides et sensibles.
Devant tout cas d'ILCD, un isolement géographique (au moins pendant la période où le patient est diarrhéique) et un isolement septique de type « contact » doivent être prescrits. La transmission de *C. difficile* étant souvent manuportée, le port de gants est fortement recommandé. Le type de lavage des mains reste, encore aujourd'hui, très controversé. En effet, si les savons antiseptiques à base de chlorhexidine se sont révélés, in vitro, actifs sur les spores de *C. difficile*, ils n'ont pas démontré en revanche, in vivo, une efficacité supérieure à celle des savons simples.
Une attention toute particulière doit être portée à la désinfection de l'environnement qui peut être fortement contaminé et représenter un réservoir important de *C. difficile*. Si un bionettoyage classique à l'aide d'un détergent réduit la contamination environnementale, l'utilisation d'un désinfectant sporicide à base d'aldéhyde ou d'hypochlorite semble plus efficace.
Soulignons que le traitement des porteurs asymptomatiques par métronidazole ou vancomycine n'est pas recommandé car son efficacité n'est que transitoire.
Le contrôle de l'utilisation de certains antibiotiques connus pour leur fort pouvoir inducteur d'infections à *C. difficile*, est un élément clé de la prévention des ILCD. De nombreuses études ont montré que la diminution d'utilisation de certains antibiotiques (clindamycine, céphalosporines) était significativement associée à une diminution de l'incidence des ILCD.

8. L'essentiel

C. difficile est responsable de la majorité des cas de CPM et de 10 à 25 % des diarrhées postantibiotiques. Il est reconnu comme le principal agent de diarrhées nosocomiales chez l'adulte.



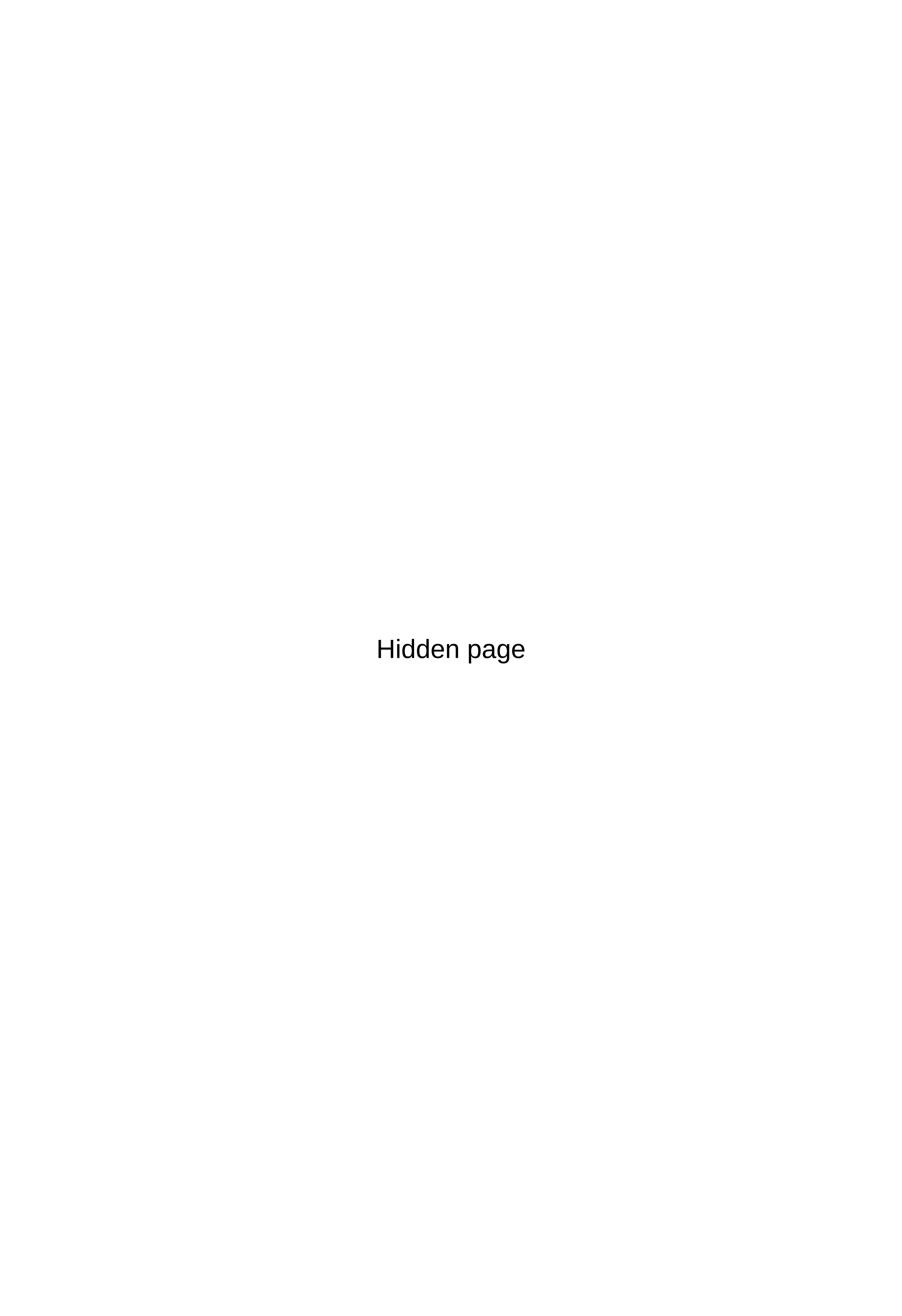
Hidden page

Diarrhées dues aux *Vibrionaceae*

Jean-Louis Koeck

- Le choléra
- Autres infections dues à *Vibrio* sp.
- Diarrhées dues à *Aeromonas*
- Diarrhées dues à *Plesiomonas shigelloides*
- Conclusion
- Pour en savoir plus




Hidden page

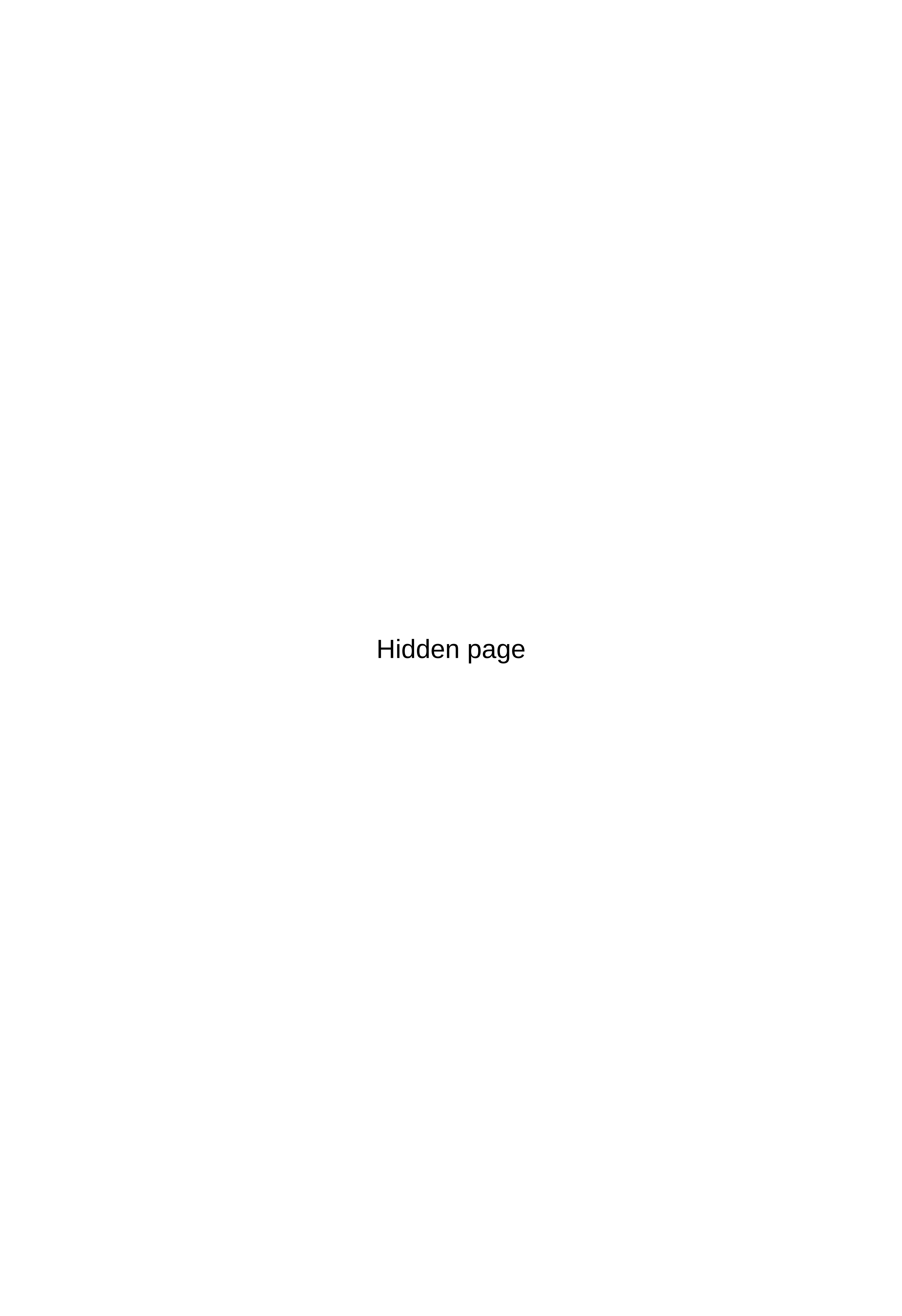

Hidden page

Tableau 2. Différenciation des biovars de *Vibrio cholerae* O:1.		
Caractère	Cholerae	El Tor
Hémolyse	–	+
Agglu. GR poulet	–	+
Sensibilité polymyxine B	+	–
Production d'acétoïne	–	+
Sensibilité au phage IV	+	–
Sensibilité au phage V	–	+

V. cholerae est naturellement sensible à de nombreux antiseptiques et antibiotiques. Cependant, la bactérie peut développer rapidement des résistances, en particulier vis-à-vis des molécules utilisées lors des campagnes prophylactiques ou curatives de masse. Ainsi en Tanzanie, au cours de l'épidémie de 1977, les souches isolées dans les premiers mois étaient toutes sensibles à la tétracycline. Après 5 mois d'utilisation massive de cet antibiotique (1 788 kg de tétracycline ont été utilisés en traitement et en prophylaxie), 76 % des souches étaient devenues résistantes à la tétracycline. De même, la souche responsable de l'épidémie rwandaise était résistante à la tétracycline, à l'ampicilline et aux sulfamides. Des résistances acquises ont également été décrites en Inde et en Amérique latine. Ces résistances sont portées par des plasmides conjugatifs différents chez les souches indiennes et les souches africaines.

Le vibrion cholérique résiste bien aux basses températures et à l'humidité. Il est en revanche sensible aux milieux dont le pH est acide et à la dessiccation qui le tue en 3 h. Il prolifère dans les boues alcalines, dans les eaux des effluents, dans les eaux saumâtres et dans les linges souillés par les déjections des malades. Jusqu'au début des années 1980, il était admis que sa survie dans l'eau à température ambiante ne dépassait pas 1 mois. La pérennisation de l'endémie nécessitait donc un réensemencement périodique des eaux par les déjections des malades. Cependant, cette conception n'expliquait pas le maintien de *V. cholerae* dans certaines régions à haut niveau d'hygiène, comme la côte Est des États-Unis (Golfe du Mexique) ou l'Australie (Queensland). En 1980, en utilisant des techniques de coloration de l'ADN et de biologie moléculaire, Colwell mettait en évidence, dans l'environnement, des vibrions non détectables par les techniques bactériologiques classiques. La bactérie se trouve en effet sous une forme de résistance adaptée à sa survie, viable, bien que non cultivable sur les milieux habituellement utilisés. Cet état est caractérisé par des modifications morphologiques (taille diminuée, aspect coccoïde) et métaboliques avec une réduction de plus de 90 % des métabolismes liés au fonctionnement de la chaîne respiratoire. Sous cette forme, *V. cholerae* est capable de survivre dans un environnement défavorable. Le temps de survie n'a pas été estimé avec précision, mais il pourrait atteindre plusieurs années. Il est augmenté de manière importante lorsque les vibrions colonisent le zooplancton, dont le métabolisme et la prolifération

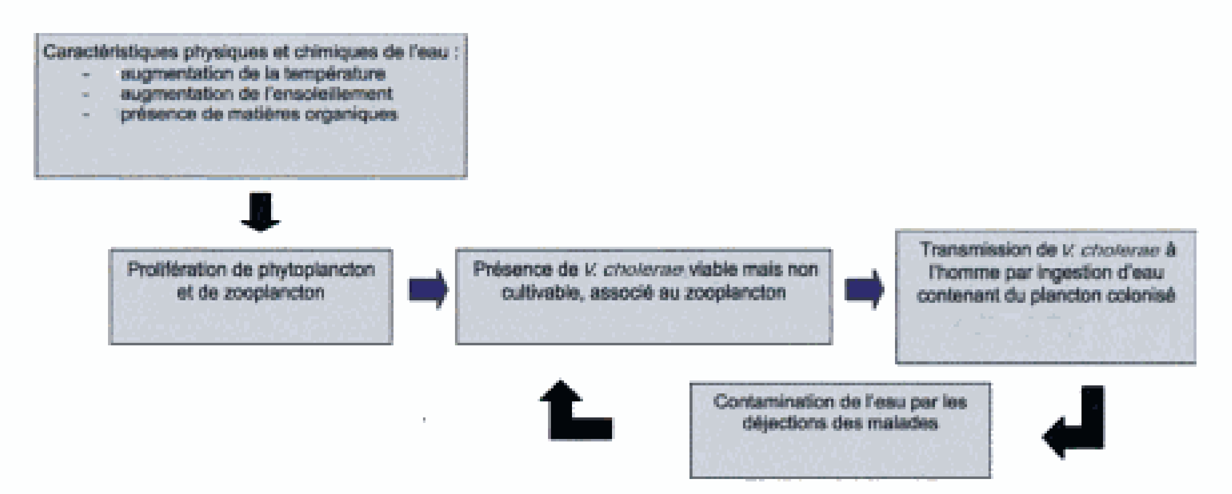


Figure 1. Cycle de transmission de *V. cholerae* dans la nature (d'après Colwell RR, Huq A).

favorisent le passage à la forme viable mais non cultivable. Pour de nombreux auteurs, ce mécanisme symbiotique particulier augmente la résistance dans le milieu extérieur et joue un rôle fondamental dans l'expression épidémiologique de la maladie *(figure 1)*.

1.2.2. Structure antigénique

Quatre principaux types d'antigène ont été décrits chez *V. cholerae* : l'antigène H flagellaire, l'antigène M de surface, les antigènes protéiques situés à hauteur de la membrane externe, et l'antigène O porté par la partie polysaccharidique du lipopolysaccharide (LPS).

L'antigène O présente un intérêt majeur sur les plans épidémiologique et diagnostique. En effet, si 139 sérogroupes O sont actuellement décrits, seules les souches O:1 toxinogènes étaient, jusqu'à ces dernières années, associées au choléra. L'agglutination par un sérum anti-O:1 représente ainsi un temps capital du diagnostic après l'identification bactériologique ; elle entraîne la prise de mesures sanitaires et la déclaration internationale. L'émergence du sérotype O:139 ne remet pas en cause cette démarche diagnostique, mais incite à la prudence devant une souche de *V. cholerae* non-O:1 , isolée chez un patient ayant séjourné en Asie du Sud. Des sérums anti-O:139 sont commercialisés. Par ailleurs, toutes les souches isolées, qu'il s'agisse de *V. cholerae* O:1 ou d'une suspicion de sérotype O:139, doivent être adressées au Centre national de référence à l'Institut Pasteur de Paris.

Les souches O:1 se répartissent en trois sérovars dénommés Ogawa, Inaba et Hikojima, qui possèdent en commun le déterminant antigénique A. Il existe deux autres déterminants, B et C, qui sont exprimés à des taux variables en fonction du sérogroupe. Les souches Inaba n'expriment que l'antigène C, alors que les souches Ogawa expriment l'antigène B et, à un moindre degré, l'antigène C. Le sérovar Hikojima, extrêmement rare, exprime à des taux élevés les trois antigènes. Ces caractères antigéniques ne sont pas stables, ce qui limite leur intérêt épidémiologique. Le glissement antigénique du sérovar Ogawa vers le sérovar Inaba a été observé au cours d'épisodes épidémiques. Il peut être reproduit in vitro avec une fréquence de 10^{-5}, en cultivant

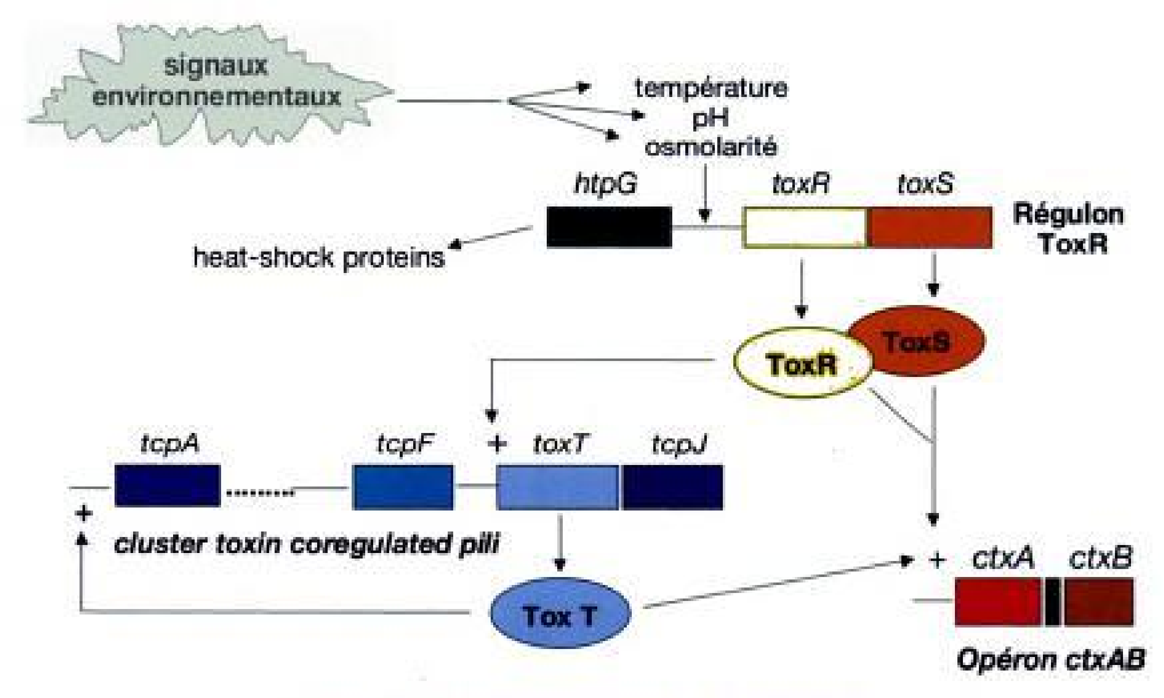


Figure 3. Régulation génétique de la toxinogenèse.

réduction du pont disulfure de la sous-unité A, permettant ainsi la libération de A1 qui sera transloquée dans la cellule. Le mécanisme exact de cette translocation n'est pas identifié, mais deux hypothèses ont été évoquées : la sous-unité B pourrait s'insérer dans la membrane cellulaire et constituer un pore permettant le passage de A1 ; un mécanisme d'endocytose a également été proposé.

La cible de A1 est une protéine de membrane, la protéine Gs, qui régule l'activité de l'adénylcyclase, contrôlant ainsi le taux d'adénosine-monophosphate cyclique (AMPc) dans la cellule-hôte. La forme active de Gs (Gs-GTP) augmente l'activité de l'adénylcyclase, alors que sa forme inactive (Gs-GDP) la réduit. À l'état normal, la forme active est produite en réponse à une stimulation hormonale. Un mécanisme de contrôle immédiat faisant intervenir une enzyme, la GTPase, permet un retour rapide à la forme inactive. Au cours du syndrome cholérique, l'activation de Gs par A1 correspond à une modification stable de Gs (adénosine-diphosphate/ribosylation) entraînant une accumulation d'AMPc à l'origine du déséquilibre ionique et de la fuite liquidienne *(figure 4)*.

1.3.2. Autres facteurs de virulence présents chez *V. cholerae*

La plupart des souches de *V. cholerae* produisent une entérotoxine qui agit en détruisant les jonctions cellulaires entre les cellules de la muqueuse digestive. Cette toxine, dénommée Zot (*zona occludens toxin*), est codée par un gène situé près de la région *ctx (figure 2)*. L'expression du gène *zot* pourrait être corégulée avec celle de l'opéron *ctx*.

Entérotoxine d'individualisation plus récente, Ace (*accessory cholera enterotoxin*) est responsable de diarrhées sur modèle animal. Son rôle dans la maladie humaine reste cependant inconnu à ce jour.

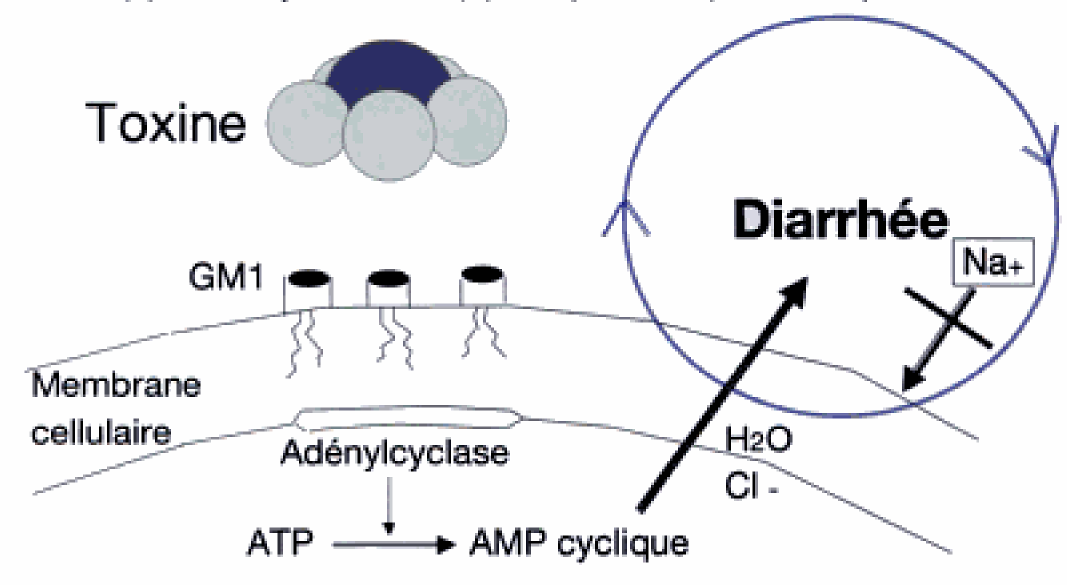


Figure 4. Action de la toxine cholérique.

Deux adhésines ont été également décrites chez *V. cholerae* : les pili TCP (*toxin coregulated pilus*) d'une part, et la protéine Acf (*accessory colonization factor*) d'autre part. Les mutants défectifs, incapables de produire l'une ou l'autre de ces adhésines, se caractérisent par une perte ou une diminution de la virulence.

Les différents facteurs de virulence agissent en synergie. Leur synthèse est bien souvent corégulée, et répond à l'activation par des signaux environnementaux de systèmes génétiques complexes.

1.4. Régulation transcriptionnelle des gènes de virulence

La transcription de l'opéron *ctxAB* dépend de nombreux facteurs environnementaux : pH, présence de certains acides aminés, osmolarité et température. De nombreux autres gènes sont soumis chez *V. cholerae* à une régulation similaire. Ces données suggèrent l'existence d'un régulon dont la caractérisation moléculaire s'est déroulée en plusieurs étapes :

– au début des années 1980, Mekalanos, après avoir cloné *ctxAB* dans *Escherichia coli*, observe que l'expression du gène reste toujours très faible, quelles que soient les conditions de culture. Il existe donc un autre facteur, dont l'activation chez *V. cholerae* favorise la transcription de *ctxAB* ;

– quelques mois plus tard, Miller et Mekalanos utilisent une souche d'*E. coli* ne fermentant pas le lactose et complémentée par le gène *lacZ*, associé au promoteur de l'opéron *ctxAB*, pour cribler une banque de plasmides recombinants porteurs de fragments d'ADN de *V. cholerae*. Cette technique leur permet de mettre en évidence un gène régulateur *toxR*, dont la présence augmente l'expression de *lacZ*. Le produit de ce gène, ToxR, est une protéine transmembranaire, comprenant un domaine cytoplasmique et un domaine

périplasmique. Elle existe dans la cellule bactérienne sous une forme inactive monomérique ;
– par la suite, l'utilisation du transposon *TnphoA* permet de caractériser 17 autres gènes, dont *acf* et *tcp*, régulés par ToxR. Ces gènes ont été dénommés *tag* pour *toxR activated genes* ;
– enfin, des travaux plus récents montrent que la régulation des gènes *tag* nécessite l'action concomitante de trois protéines, ToxR, ToxS et ToxT, dont les gènes constituent le régulon ToxR.

Le contrôle transcriptionnel des gènes *tag* fait ainsi intervenir de très nombreux facteurs et représente un modèle complexe de régulation génétique *(figure 3)*. Sous l'action de signaux environnementaux, ToxR subit des changements conformationnels (dimérisation), qui sont stabilisés par ToxS. Cette forme active est capable d'augmenter l'expression des gènes *ctxA, ctxB et toxT*, en se fixant au niveau de leurs promoteurs. *ToxT*, protéine transactivatrice de l'opéron *ctxAB* et des opérons *acf* et *ctp*, représente le deuxième niveau de cette activation en cascade.

L'expression du régulon ToxR apparaît elle-même contrôlée par un ensemble de gènes situés immédiatement en amont sur le chromosome, les gènes *htpG* (*heat shock proteins*), dont la transcription inhibe celle de *toxR*. Ces gènes sont exprimés lorsque certaines conditions agressives sont présentes : température élevée, pH bas, baisse de l'oxygène disponible ou présence de sels biliaires. Or, ces conditions sont réunies au niveau de l'estomac humain : la régulation par *htpG* apparaît ainsi bénéfique pour *V. cholerae*, en évitant la synthèse de CT à un stade trop précoce de l'infection, et en favorisant, à un moment donné, l'expression d'autres facteurs de virulence comme la mobilité.

1.5. Origine des gènes de virulence

Depuis 1996, nous savons que le gène de la toxine est introduit par un bactériophage filamenteux (CTXphi), dont le récepteur est le pilus TCP, corégulé avec CT. Par ailleurs, le sérogroupe O:139 est apparu à la suite d'un échange génétique entre une souche non-O:1 et une souche O:1, permettant la synthèse d'un nouveau polysaccharide. Les souches O:139 sont capsulées, faisant craindre l'apparition d'isolats résistants à la phagocytose capables d'entraîner des formes invasives.

1.6. Épidémiologie du choléra

1.6.1. Périodes épidémiques

Quatre grandes périodes épidémiques peuvent être individualisées :
– avant 1817 : le choléra sévit à l'état endémo-épidémique autour de son foyer naturel du delta du Gange, en Asie du Sud et du Sud-Est ;
– de 1817 à 1923 : il quitte son berceau asiatique pour déferler sur le monde en six pandémies. L'agent responsable est *V. cholerae* O:1 biovar cholerae. Au cours de cette période, les épidémies suivent les mouvements de population liés aux guerres et au commerce, par la voie des caravanes ou du trafic côtier. Le vibrion circule ainsi d'un pays à l'autre, d'abord lentement, touchant le Moyen-Orient et l'Europe, puis à un rythme plus rapide,

avec l'apparition de la navigation à vapeur qui lui permet d'atteindre l'Amérique en 1832 ;
– en 1884, la découverte par Koch du vibrion cholérique à Alexandrie au cours de la 5e pandémie, permet la mise au point des premières mesures prophylactiques efficaces ;
– en 1905, au lazaret El Tor dans le Sinaï, un nouveau vibrion appartenant au sérotype O:1, mais possédant des caractéristiques bactériologiques particulières, est isolé chez des pèlerins morts sans avoir présenté les symptômes du choléra. Considéré alors comme non pathogène, il est dénommé *V. cholerae* El Tor par opposition aux souches classiques.

La période allant de 1923 à 1960 marque un retour progressif du choléra vers le continent asiatique. Cependant, en 1937, une épidémie se déclare dans l'archipel indonésien des Célèbes. L'agent pathogène est *V. cholerae* biovar El Tor.

Endémo-épidémique pendant plus de 20 ans aux Célèbes, le biovar El Tor va envahir progressivement l'ensemble du Sud-Est asiatique à partir de 1961 : c'est le début de la 7e pandémie. L'avion favorise la dissémination mondiale de la maladie. En effet, la durée des voyages internationaux est généralement inférieure à la période d'incubation de la maladie, rendant peu efficace la surveillance médicale aux frontières et l'application du Règlement sanitaire international. En 1970, le continent africain est atteint, le choléra s'installant sur un mode endémo-épidémique toujours d'actualité. En 1991, il fait un retour spectaculaire sur le continent américain, au Pérou, d'où il gagne par voies aérienne, fluviale ou maritime, la Colombie, l'Équateur, le Brésil et le Chili. En quelques mois, l'Amérique du Sud et l'Amérique centrale sont atteintes. Les conditions géoclimatiques et socio-économiques qui prévalent dans ces pays font redouter une endémisation du choléra.

1.6.2. *V. cholerae* O:139 : la 8e pandémie est-elle déjà en marche ?

En octobre 1992, de nombreux cas de choléra, dus à un vibrion cholérique n'agglutinant pas avec les sérums anti-O:1, sont déclarés à Madras, Madurai, Vellone et Calcutta. Au cours des mois suivants, cette souche, dénommée O:139 « Bengale », est responsable d'une importante épidémie au Bangladesh, avec plus de 100 000 cas rapportés fin mars 1993. La souche est également diffuse au Pakistan, en Thaïlande et en Malaisie.

Pour de nombreux observateurs, l'émergence brutale de *V. cholerae* O:139 pourrait signifier le début d'une nouvelle pandémie. D'autres, comme Dodin, restent plus prudents, notant que « la souche O:139 après quelques mois a été supplantée dans les territoires qu'elle avait conquis par la souche El Tor ».

L'étude des marqueurs génétiques (*mutilocus enzyme electrophoresis*, ribotypie, électrophorèse en champ pulsé et comparaison des séquences des gènes *ctxA* et *ctxB*) montre que les souches O:139 sont génétiquement très proches des souches El Tor indiennes. Les différences phénotypiques observées à hauteur de l'antigène O, correspondent à des remaniements situés au niveau de la région *rfb*. Les gènes *rfbA, B, D, E, G, H, I, K, L, M, N, O, P,* et *T* sont supprimés, alors que les gènes *rfbD, Q, R* et *S* sont présents. Ainsi, tous les gènes nécessaires à la synthèse de l'antigène O:1 sont absents. Il est probable que la pression exercée par l'immunité collective de

populations depuis longtemps en contact avec *V. cholerae* O:1, soit à l'origine de l'émergence de ces nouvelles souches toxinogènes.

1.6.3. Modalités épidémiologiques

Le choléra est une maladie du péril fécal et une maladie des mains sales : « *I think the ways in which cholera can spread in a place are extremely diverse...* » signalait Robert Koch en 1884. La transmission peut être indirecte par ingestion d'eau contaminée ou d'aliments souillés. L'épisode sud-américain illustre ce rôle primordial de l'eau comme vecteur de la maladie. Ainsi, au cours de l'épidémie péruvienne, de nombreux observateurs ont remarqué l'importance de la consommation des boissons et des fruits vendus dans les rues : boissons rafraîchies avec de la glace préparée à partir d'eau contaminée, fruits coupés en tranches, lavés avec de l'eau souillée et laissés exposés pendant des heures à une température favorisant la multiplication bactérienne. En Colombie, la situation était nettement plus contrastée. Dans les zones urbaines ou rurales non isolées, une campagne de prévention médiatisée avait précédé l'arrivée du choléra, insistant sur l'ébullition et la javellisation de l'eau et sur l'hygiène individuelle et collective. Ces mesures ont permis de contrôler rapidement l'épidémie. Dans les zones rurales isolées, le message a été moins bien reçu, et le choléra a pu sévir sur un mode parfois explosif. La transmission peut également être directe ; c'est une transmission « courte », de la main à la main, qui rend compte de la diffusion du choléra dans les régions sahéliennes sèches du continent africain, que Dodin résume en une question : « Quel est le premier geste d'un homme en retrouvant un autre ? C'est la poignée de mains ».

La diffusion épidémique du choléra est favorisée par la dégradation des conditions d'hygiène. Ainsi, la circulation de *V. cholerae* dans un camp de réfugiés rwandais signe l'absence de moyens d'hygiène collective et souligne l'importance de la promiscuité. L'endémisation de la maladie est influencée par des facteurs socio-économiques identiques, associés à des conditions géoclimatiques particulières, réunissant le plus souvent chaleur et humidité.

L'analyse de ces différentes données permet de mieux comprendre les différents faciès épidémiologiques du choléra :

– dans les régions endémiques, les vibrions ne cessent de circuler ; des cas sporadiques s'observent chaque année. Ils sont peu nombreux en raison d'un niveau d'immunité élevé dans la population ;

– en utilisant différents moyens de transport, *V. cholerae* peut atteindre d'autres territoires où sont réunies, d'une part, des conditions favorables à la transmission et, d'autre part, une absence d'immunité collective, ce qui facilite la survenue d'une épidémie. Celle-ci progresse en tache d'huile ou de manière explosive, et commence à décliner après l'apparition d'une immunité collective suffisante, ou après la mise en place de mesures de lutte efficaces ;

– favorisé par des moyens de transport rapides, le choléra gagne de nouveaux pays où la transmission est possible : la pandémie est en marche ;

– si les conditions socio-économiques (misère, sous-développement) et géoclimatiques (réservoir environnemental) sont présentes, le choléra peut devenir endémique ;

– dans des pays à haut niveau d'hygiène, des cas isolés peuvent être importés (environ 10 cas/an en France).

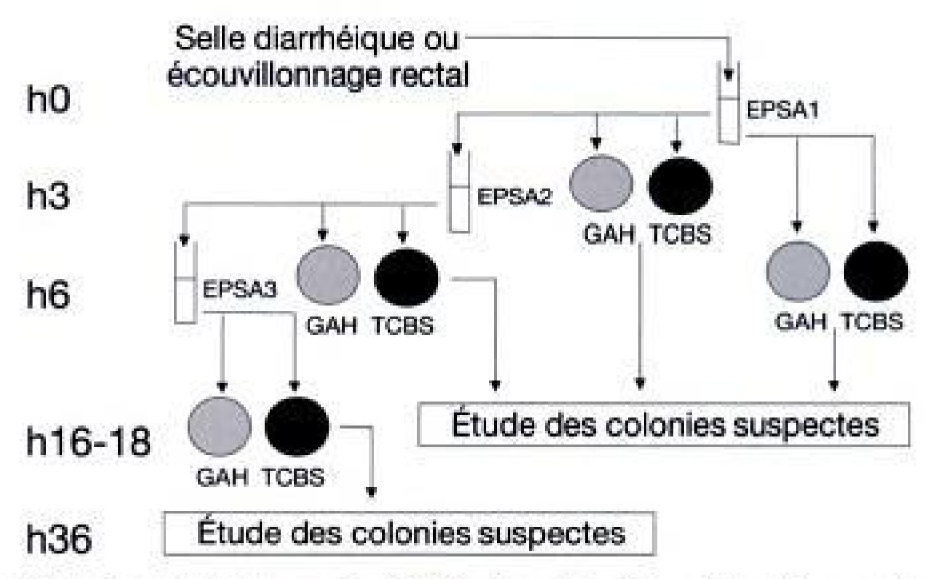


Figure 5. Enrichissement et isolement de *V. cholerae* à partir des selles.



Figure 6. Enrichissement et isolement de *V. cholerae.*

le test de l'oxydase est effectué sur un milieu ne contenant pas d'hydrate de carbone, par exemple la GAH. L'identification de l'espèce peut faire appel aux galeries de tests biochimiques habituellement utilisées pour les entérobactéries. Les principaux caractères d'identification sont précisés dans le *tableau 1*. Il existe un certain degré de variabilité des caractères phénotypiques, qui ne doit pas dérouter : certaines souches épidémiques ne produisent pas d'indole *(figure 7)* ; les décarboxylases, en particulier la lysine décarboxylase, sont inconstantes ou apparaissent parfois lentement ; la production d'acétoïne peut être faible et difficile à détecter chez certaines souches appartenant au biotype El Tor. Les souches de *V. cholerae* sont classiquement sensibles au composé « vibriostatique » O/129 (2,4 diamino-6,7 diisopropylptéridine). Cependant, l'acquisition de résistances croisées avec le triméthoprime, par



Figure 7. Identification de *V. cholerae* biotype El Tor sur galerie Api 20 E® (souche indole négative).

conjugaison plasmidique ou transposition, a diminué l'intérêt taxonomique de la détermination de la sensibilité à ce produit. La recherche d'une agglutination anti-O:1 est un temps capital du diagnostic. Elle doit compléter l'identification bactériologique de *V. cholerae* pour la déclaration officielle des premiers cas. Néanmoins, une forte suspicion de choléra, avec isolement d'une souche n'agglutinant pas avec le sérum anti-O:1, doit entraîner la détection du gène *ctx* codant pour la toxine cholérique. Parallèlement, une agglutination anti-O:139 sera effectuée si cet antisérum est disponible. En effet, l'apparition de souches de *V. cholerae* possédant des antigènes de surface différents, pourrait être suivie d'une épidémie sévère dans une population immunologiquement vierge.

1.7.2. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

Il est impératif de réaliser un antibiogramme pour les premières souches isolées lors d'une épidémie, puis de le faire périodiquement. Les résultats de l'antibiogramme permettent de guider le traitement antibiotique, de définir les modalités de la chimioprophylaxie, et de caractériser les isolats d'un point de vue épidémiologique. L'antibiotype donne la possibilité de « tracer » une souche dans un groupe de patients ou une zone géographique particulière. Les méthodes utilisées sont celles décrites pour les entérobactéries. Le plus souvent, c'est la méthode des disques, par diffusion en milieu gélosé de Mueller-Hinton, qui est la plus couramment utilisée. La catégorisation clinique peut également faire appel aux recommandations des sociétés savantes fournies pour les entérobactéries. Dans certaines conditions, il peut être utile de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de certains antibiotiques. L'antibiogramme devrait inclure l'étude des molécules suivantes : amoxicilline, amoxicilline + acide clavulanique, tétracycline, nitrofurantoïne, kanamycine, acide nalidixique, ofloxacine, érythromycine, chloramphénicol, colistine, triméthoprime, sulfamides et cotrimoxazole. D'autres molécules peuvent être testées en fonction des résultats obtenus. Les souches sauvages semblent présenter une moindre sensibilité aux bêta-lactamines que les entérobactéries. *V. cholerae* peut acquérir une pénicillinase de type TEM, ou d'autres bêtalactamases plus rares. La résistance aux cyclines est devenue fréquente dans certaines régions, de même que la résistance aux sulfamides. La résistance au triméthoprime, d'origine plasmidique, est croisée avec la résistance au composé O/129. La résistance aux fluoroquinolones est plus rare. Les souches de *V. cholerae* sont naturellement intermédiaires aux macrolides.

1.7.3. Détection de *V. cholerae* dans l'environnement

Le nombre de vibrions cholériques dans l'environnement est faible. Il est donc indispensable de prélever l'eau en grande quantité et d'appliquer, quel que

soit l'échantillon à tester, des techniques de concentration : eau peptonée hypersalée alcaline concentrée, filtration sur membrane poreuse de 0,22 µm, utilisation de billes de polyacrylamide sensibilisées par des anticorps, ou tampons de Moore. Cette dernière technique est largement utilisée pour la surveillance épidémiologique dans les zones à risque, voisines des régions endémiques ou épidémiques. Les tampons sont placés au niveau de rivières, des réservoirs d'eau et des puits de villes ou villages « *sentinelles* ».

1.8. Traitement et prophylaxie

Le traitement est une urgence. Il repose sur la réhydratation. Facile à mettre en œuvre sur un petit nombre de malades en milieu hospitalier équipé, il se heurte à des difficultés logistiques, souvent insurmontables, lorsque le taux d'attaque est élevé dans une zone où les structures sanitaires sont insuffisantes. L'échec des organisations humanitaires non gouvernementales au Rwanda en est une illustration récente. L'antibiothérapie adaptée n'est pas une indication absolue. Elle permet théoriquement de réduire le volume et l'intensité de la diarrhée, et de raccourcir la durée du portage. La doxycycline a été proposée dans cette indication. Elle peut être remplacée, en cas de résistance, par le cotrimoxazole, les sulfamides ou le chloramphénicol. Ses avantages et ses limites restent à évaluer.

La prophylaxie du choléra à l'échelle individuelle est d'abord une affaire de bon sens. Selon Dodin, « nous sommes assurés qu'un lavage des mains soigneusement réalisé avec un antiseptique peut éviter le passage de la main à la main et a autant de valeur protectrice qu'un vaccin... ».

L'hygiène corporelle, l'utilisation d'eau potable et de boissons contenues en bouteilles capsulées, le nettoyage et la cuisson correcte des aliments, restent la meilleure protection du voyageur. Cependant, en cas d'exposition importante dans un contexte épidémique, une chimioprophylaxie peut être envisagée. C'est une mesure temporaire, d'efficacité immédiate, mais dont l'utilisation prolongée risque de provoquer la sélection de souches résistantes. La doxycycline, à la dose de 600 mg en une prise, mais surtout les furanes, molécules également actives sur les autres bactéries entéropathogènes, peuvent être utilisés.

La vaccination anticholérique suscite encore de nombreuses controverses. Le seul vaccin actuellement disponible en France est une préparation injectable de huit milliards de *V. cholerae* O:1 tués, également répartis entre les biotypes cholerae et El Tor, et entre les sérovars Ogawa et Inaba. D'une efficacité médiocre sur le plan individuel (50 % pendant 6 mois), son intérêt en épidémiologie n'a jamais été démontré et son utilisation a été abandonnée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 1973. Depuis, d'autres vaccins ont été élaborés : anatoxine cholérique, sous-unité B, fractions bactériennes, *V. cholerae* vivants rendus incapables de synthétiser la sous-unité A par délétion génétique. L'utilité de ces vaccins demeure incertaine : s'il s'agit de mettre fin à la 7e pandémie, toutes les populations potentiellement exposées devraient être vaccinées. Or, elles vivent dans les pays les plus pauvres du monde, alors que ces vaccins qui ont une efficacité de courte durée, sont très onéreux. S'il s'agit de stopper une épidémie dans une population, celle-ci étant déjà largement atteinte par la diffusion occulte des vibrions, il est sou-

vent trop tard pour vacciner. D'autre part, une vaccination même efficace ne dispense pas des mesures d'hygiène alimentaire. Enfin, la protection vaccinale des voyageurs avant un séjour en zone d'endémie n'apparaît pas pertinente, le risque étant extrêmement faible (environ 1/100 000 avec un taux de létalité inférieur à 2 %).

2. Autres infections dues à *Vibrio* sp.

À côté de *V. cholerae*, O:1 ou O:139, responsable du choléra, il existe tout un éventail d'espèces appartenant au genre *Vibrio*, et responsables d'infections gastro-intestinales de gravité variable chez l'homme. Leur mécanisme physiopathologique, souvent mal connu, n'est pas univoque. Les espèces les plus fréquemment en cause sont *V. cholerae* (non-O:1, non-O:139), *Vibrio parahaemolyticus, Vibrio fluvialis, Vibrio mimicus, Vibrio hollisae*. Beaucoup de ces espèces, bien que plus fréquentes dans les pays tropicaux, peuvent également être isolées dans les pays tempérés. Leur exigence en chlorure de sodium est variable. La contamination humaine est habituellement secondaire à la consommation de produits halieutiques, en particulier les huîtres.
V. parahaemolyticus est probablement l'espèce de *Vibrio* la plus souvent responsable de syndromes diarrhéiques, évoquant un syndrome toxinogène. La présence de mucus et de leucocytes dans les selles peut néanmoins être observée. Certaines souches possèdent une uréase. Le diagnostic bactériologique des espèces de *Vibrio* responsables de gastro-entérites, est parfois difficile. Le milieu TCBS et la gélose au bromocrésol pourpre (BCP) semblent être les plus adaptés à leur isolement. L'exigence en NaCl peut être à l'origine de faux négatifs. En particulier, la réalisation d'un examen direct avec de l'eau distillée peut être négative en raison d'une lyse bactérienne par hypotonie. La plupart des espèces de *Vibrio* isolées à partir des selles, ne fermentent pas le lactose. Des milieux d'enrichissement sont recommandés pour l'isolement des vibrions dans les selles de patients convalescents ou traités. L'eau peptonée alcaline (pH 8,5) comportant 1 % de NaCl, donne de bons résultats. La réaction de l'oxydase est un caractère important de l'orientation ; elle doit être déterminée à partir de colonies cultivées sur un milieu ne contenant pas d'hydrate de carbone. L'identification repose sur la détermination des caractères biochimiques à l'aide de galeries miniaturisées. L'inoculum doit être enrichi en NaCl à la concentration de 1 % (poids/volume).
Les souches de *V. cholerae* non-O:1 et non-O:139 sont plus souvent isolées de prélèvements environnementaux, en particulier hydriques, que les souches O:1 ou O:139. Ces infections surviennent sur un mode endémo-sporadique.

3. Diarrhées dues à *Aeromonas*

Les espèces en cause dans les diarrhées sont *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria* et *Aeromonas caviae*. Il s'agit de bactéries dulçaquicoles, c'est-

Tableau 3. Principaux caractères bactériologiques distinctifs dans le genre *Aeromonas*.

	hydrophila	*caviae*	*sobria*	*veronii*	*salmonicida*
Mobilité	+	+	+	+	–
T° optimale	30 °C	30 °C	30 °C	30 °C	20-25 °C
ADH*	+	+	+	–	+
LDC	d	d	d	+	d
ODC	–	–	–	+	–
Esculine	+	+	–	+	d
Gaz en glucose	+	–	+	+	d
Acétoïne (VP)	+	–	d	+	–
L-arabinose	+	+	–	–	d
Salicine	+	+	–	+	d

* ADH : hormone diurétique.

à-dire dont l'habitat traditionnel est représenté par l'eau douce, stagnante, courante ou lagunaire. Elles sont présentes en grande quantité dans les eaux de surface et dans les eaux d'égout. Les diarrhées à *Aeromonas* surviennent le plus souvent après une baignade, ou absorption d'eau ou d'aliments contaminés. Il s'agit de diarrhées aqueuses sans leucocytes ou hématies dans les selles. Plusieurs entérotoxines (cytotoniques et cytolytiques) sont produites par les bactéries de genre *Aeromonas*.

Les espèces responsables d'infections humaines sont des bacilles à Gram négatif aéro-anaérobies et possédant une mobilité polaire. Habituellement, ces bactéries ne fermentent pas le lactose. Sur gélose Hektoen ou sur gélose bromocrésol pourpre, les colonies apparaissent habituellement vertes. Le milieu *Salmonella–Shigella* inhibe la croissance des *Aeromonas*. Une réaction de l'oxydase positive et la résistance au composé O/129 orientent le diagnostic. Les galeries d'identification biochimique, utilisées pour identifier les entérobactéries, confirment le diagnostic d'espèce. Les caractères phénotypiques permettant l'identification des principales souches d'*Aeromonas* sont résumés dans le *tableau 3*.

4. Diarrhées dues à *Pleisomonas shigelloides*

Le genre *Plesiomonas* est constitué d'une seule espèce, *Plesiomonas shigelloides*. Proche des *Vibrionaceae* par ses caractères phénotypiques, le statut de *P. shigelloides* reste encore à établir. Cette espèce est isolée dans les eaux douces dont la température est supérieure à 8 °C. Si elle est surtout répandue en milieu tropical, où survient la grande majorité des infections, elle peut aussi être isolée dans les pays tempérés, en été et en automne. *P. shigelloides* est

aussi un commensal de l'intestin de nombreux poissons, crustacés et animaux poïkilothermes.
Cette bactérie est transmise à l'homme lors de la consommation d'eau ou d'aliments contaminés, en particulier de fruits de mer crus (huîtres) ou mal cuits. Elle évolue sous forme de cas sporadiques dans les zones tempérées, et sous forme d'épidémies dans les zones tropicales. Les facteurs de virulence de cette espèce bactérienne, mais aussi les éventuels facteurs de réceptivité liés à l'hôte, sont encore trop mal connus pour proposer à l'heure actuelle un modèle physiopathologique de l'infection.
Cliniquement, cette espèce bactérienne entraîne une diarrhée aqueuse cholériforme, plus rarement un syndrome dysentérique. Une présentation clinique extrêmement bruyante, avec déshydratation rapide, peut être observée et faire évoquer un choléra dont le génie épidémique est beaucoup plus important. La majorité des patients guérissent environ 4 semaines après le début des symptômes. La prolongation de la maladie ou sa dissémination extra-intestinale (septicémie, méningite ou ostéomyélite) sont observées en présence de facteurs prédisposants, notamment une immunodépression.
L'identification bactérienne a un intérêt clinique et épidémiologique. Elle nécessite la réalisation de coprocultures avant toute antibiothérapie. Cette espèce ne cultive pas sur le milieu TCBS, mais de bons résultats sont obtenus avec le milieu Hektoen, permettant d'isoler, après 24 h d'incubation à 37 °C, des colonies vertes parfois dissociées, plus larges que celles de *Shigella* spp. Les colonies sont formées de bacilles à Gram négatif rectilignes ; en milieu liquide, une mobilité polaire est observée à l'état frais. Une réaction de l'oxydase positive et l'absence d'uréase doivent alors faire évoquer *P. shigelloides*. L'absence de production de gaz, les caractères du zymogramme (de rares sucres sont fermentés en dehors du glucose), la sensibilité au composé O/129 et surtout la production de trois décarboxylases (l'ornithine décarboxylase, la lysine décarboxylase et l'arginine dihydrolase), permettent de confirmer l'identification. Le recours à des techniques moléculaires est inutile.
Le phénotype de résistance aux antibiotiques est caractérisé par une résistance de bas niveau à l'ampicilline et à la ticarcilline. Les souches sont habituellement sensibles aux tétracyclines, au cotrimoxazole et aux fluoroquinolones. *P. shigelloides* possède une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides, à l'exception de la nétilmicine.
Le traitement des gastro-entérites à *P. shigelloides* repose sur l'utilisation d'une cycline, du cotrimoxazole ou d'une fluoroquinolone (ofloxacine, norfloxacine ou ciprofloxacine).

5. Conclusion

Force est de constater qu'en cette fin de siècle, la lutte contre le choléra est un échec : échec des mesures préventives, de la vaccination, du règlement sanitaire international, de l'aide humanitaire sous toutes ses formes. Comme toutes les maladies du péril fécal, le choléra est lié à la misère, au sous-développement et à la guerre, fléaux qui ne cessent d'accompagner l'histoire de

Diarrhées infectieuses aiguës

Gastro-entérites aiguës virales

Évelyne Kohli, Fabienne Bon, Pierre Pothier



Les gastro-entérites virales aiguës sont un des premiers motifs de consultation en médecine générale, et principalement en pédiatrie, autant dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement. Sous nos latitudes, la prise en charge thérapeutique précoce et adaptée (réhydratation orale) a permis de réduire la mortalité de manière significative. Cependant, 30 à 40 enfants décèdent encore chaque année aux États-Unis (10 à 20 en France). Quant à la morbidité qui reste élevée, elle a un impact économique important. En revanche, dans les pays en voie de développement les gastro-entérites virales sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité élevées ; on estime à trois millions de morts, le nombre de décès par an dont 600 000 seraient dus aux infections à rotavirus.

1. Principaux virus responsables des diarrhées

1.1. Rotavirus

Ce sont des virus ubiquitaires, isolés fréquemment chez les jeunes mammifères et les oiseaux. Chez l'homme, ils ont été identifiés initialement en 1973 par microscopie électronique, et sont actuellement considérés comme la principale cause des diarrhées chez l'enfant. Ces virus non enveloppés, classés dans la famille des *Reoviridae*, ont un diamètre de 70 nm et une morphologie caractéristique en microscopie électronique *(tableau 1)*, avec une double capside à symétrie icosaédrique (aspect en « roue dentée »). Le génome est constitué de 11 segments d'acide ribonucléique (ARN) double brin, codant chacun pour une protéine structurale ou non structurale (six protéines structurales et six protéines non structurales). Le profil de migration électrophorétique de ces segments a été utilisé pour comparer les souches lors d'études épidémiologiques. Par ailleurs, cette segmentation peut être à l'origine de réassortants entre souches virales lors d'infections mixtes. Chez l'homme, des réassortants entre des rotavirus, de même sérotype ou de sérotype différent, ont été essentiellement décrits dans les pays en voie de développement.

Les six protéines structurales du rotavirus s'organisent en trois couches. Les deux couches les plus externes portent les principaux antigènes. La protéine VP6 constitue la protéine majeure de capside interne. Elle est fortement immunogène et porte les antigènes de groupe. On distingue sept groupes (A à G) ; mais chez l'homme, les gastro-entérites à rotavirus sont presque exclusivement liées au groupe A, dont la répartition est mondiale. Parmi les autres groupes, seuls les groupes B, identifié en Chine, et C ont été associés à des gastro-entérites chez l'homme.

La capside externe comprend deux protéines (VP7 et VP4) qui déterminent le sérotype du virus selon une double classification : le sérotype G, défini par la protéine VP7 qui est capable d'induire des anticorps neutralisants, et le sérotype P défini par VP4. Le typage peut être déterminé par immunologie (sérotype) ou par biologie moléculaire (génotype). Les sérotypes G (ou les génotypes, puisque dans ce cas il y a correspondance), pouvant infecter l'homme, sont au nombre de dix. Les principaux sont les sérotypes G1 à G4 (ce qui a justifié la mise au point de vaccins tétravalents vis-à-vis des quatre

Tableau 1. Principales caractéristiques virologiques des virus entéropathogènes en microscopie électronique.

Espèces	Diamètre du virion (nm)	Enveloppe	Morphologie	Aspect en microscopie électronique après coloration négative (*E. Nicand, HIA Val de Grâce*)
Rotavirus	70-75	non	Symétrie icosahédrique, avec double capside (aspect de roue dentée ou en balle de golf)	× 40·10^3
Calicivirus humains (*Norwalk-Like virus* et *Sapporo-Like virus*)	27-40	non	Aspect particulier avec des zones en relief dessinant des étoiles à 6 branches	
Astrovirus humains	28-30	non	Aspect étoilé à 5 ou 6 branches (10% des *astrovirus*)	× 67·10^3
Coronavirus humains	80-150	enveloppe lipidique portant à sa surface de hautes projections formant une couronne caractéristique	Pléiomorphisme des virions	× 67·10^3
Torovirus	120-140	enveloppe lipidique	Aspect voisin de celui des Coronavirus	
Adenovirus	80-110	non	Virus icosaédrique avec 280 hexons et 12 pentons	× 20·10^3

types majoritaires). Dans certaines régions du monde, de nouveaux sérotypes jusque-là rares, ont émergé : c'est le cas des sérotypes G9 en Inde, G5 et G10 au Brésil, G8 au Brésil et en Afrique. Plus récemment, de telles souches ont été isolées aux États-Unis, en Grande-Bretagne, en Australie et en France. Bien que la transmission des rotavirus des animaux à l'homme ne soit pas la règle, l'homologie de certaines séquences de rotavirus humains avec des virus animaux évoque de possibles réassortiments.

Dix sérotypes P peuvent infecter l'homme. Dans le cas de la spécificité P, le manque de concordance entre sérotypes et génotypes, entraîne une double nomenclature, indiquée entre crochets pour les génotypes. La majorité des souches humaines sont des génotypes [8] et [4] (respectivement sérotypes 1A et 1B), plus rarement des génotypes [6]. Ainsi, la majorité des souches humaines, dans les pays développés, sont de types P1A [8], G1 ; P1B [4], G2 ; P1A [8], G3 ; et P1A [8], G4.

1.2. *Calicivirus* humains

Ce sont de petits virus à ARN simple brin de 7,4 à 8,3 kb, et de polarité positive (diamètre 27 à 40 nm), appartenant à la famille des *Caliciviridae*. Cette

famille, dont la taxonomie a été récemment réactualisée, comprend quatre genres, mais seuls les genres « *Norwalk-Like virus* » (NLV) et « *Sapporo-Like Virus* » (SLV) maintenant renommés *Norovirus* et *Sapovirus* sont responsables de gastro-entérites chez l'homme. La classification actuelle repose sur des critères génétiques et remplace l'ancienne, fondée sur l'aspect morphologique des particules en microscopie électronique *(tableau 1)*. Ainsi, les norovirus correspondent aux anciens SRSV (*Small Round Structured Viruses*), et les sapovirus aux calicivirus, dits « typiques ». L'organisation génomique diffère entre ces deux genres, car trois cadres ouverts de lecture (ORF) sont identifiés pour les NLV, alors que le génome des SLV présente deux ORF. Ces virus ne cultivent pas sur cellules, et l'analyse des caractères antigéniques des différentes souches virales nécessite l'étude directe à partir d'un échantillon de selles, ou bien la construction de particules à partir de protéines de capside recombinantes. La caractérisation antigénique est difficile, et limitée à quelques laboratoires dans le cadre d'une recherche appliquée. Ainsi, l'analyse des souches est, pour l'instant, essentiellement génétique et ciblée sur les séquences des deux principaux ORF pour les norovirus : l'ORF1 codant les protéines non structurales (hélicase, protéase, ARN polymérase), et l'ORF2 codant la protéine de capside. Pour les sapovirus, ce sont essentiellement les protéines codées par l'ORF1 (ARN polymérase et capside) qui sont étudiées. Les calicivirus humains présentant une grande variabilité génétique, les genres *Norovirus* et *Sapovirus*, sont divisés en génogroupes eux-mêmes subdivisés en génotypes *(tableau 2)*.

1.3. *Astrovirus*

Ils ont été décrits pour la première fois en 1975 par Madeley et Cosgrove, dans les selles diarrhéiques d'enfants. Ils sont actuellement classés dans la famille des *Astroviridae*. Il s'agit de petits virus de 28 nm de diamètre, non enveloppés et présentant, en microscopie électronique, une forme en étoile, ce qui a contribué à leur dénomination *(tableau 1)*.

Tableau 2. Classification des principaux *Calicivirus* humains, fondée sur la partie du génome codant la capside (ORF 2 pour les norovirus et l'extrémité 3' de l'ORF 1 pour les sapovirus).

Genres	Génogroupes	Principaux virus (souches prototypes)
Norovirus	I	*Norwalk* *Southampton* *Desert Shield*
	II	*Snow Mountain* *Hawaii* *Bristol* *Mexico* *Toronto*
Sapovirus	I	*Sapporo* *Parkville*
	II	*London*

Leur génome est une molécule d'ARN simple brin de 7,2 à 7,6 kb, de polarité positive, comprenant trois cadres ouverts de lecture. À l'extrémité 5', les ORF1a et 1b codent pour les protéines non structurales (sérine protéase, ARN polymérase), l'ORF2 codant pour les protéines de capside dont le nombre varie de 2 à 5 selon les souches.
À la différence des calicivirus, ils se multiplient sur lignée cellulaire, notamment CaCO-2, dérivées de cellules coliques humaines carcinomateuses, ce qui a facilité leur caractérisation antigénique. On différencie actuellement huit sérotypes humains d'astrovirus ; le sérotype 1 est le plus fréquemment retrouvé.

1.4. Adénovirus humains

De la famille des *Adenoviridae*, ils forment avec les autres virus des mammifères, le genre *Mastadenovirus*. Ces virus à ADN monocaténaire non enveloppés sont responsables de pathologies variées *(tableau 1)*. Leur rôle dans l'étiologie des gastro-entérites a été longtemps controversé, jusqu'à ce que l'on identifie, en microscopie électronique, des adénovirus ne se multipliant pas in vitro sur systèmes cellulaires usuels. Depuis, ces adénovirus ont pu être cultivés sur une lignée cellulaire particulière (cellules Graham-293), et on distingue deux sérotypes, 40 et 41, que l'on classe dans le sous-groupe F. Aujourd'hui, le rôle de ces deux adénovirus dans les gastro-entérites est admis ; en revanche, celui d'autres sérotypes (31 notamment) reste à préciser.

1.5. Autres virus considérés comme agents étiologiques possibles de gastro-entérites

Le virus *Aichi* appartient à la famille des *Picornaviridae* (genre kobuvirus). Cependant, il n'est pas détectable par les techniques immunologiques ou moléculaires utilisées pour le diagnostic des entérovirus. Les torovirus (famille des *Coronaviridae*), mis en évidence dans des selles diarrhéiques en 1984, pourraient être responsables de gastro-entérites. Les caractéristiques de celles-ci sont une plus grande fréquence de sang dans les selles et l'absence d'incidence saisonnière.
D'autres virus ont été impliqués dans les gastro-entérites. Les picobirnavirus chez les patients atteints de sida, les échovirus 22, ou paréchovirus 1, et les coronavirus ont été ponctuellement impliqués dans les gastro-entérites infantiles.

2. Caractéristiques cliniques et épidémiologiques

Les gastro-entérites virales concernent toutes les tranches d'âge, mais les très jeunes enfants (moins de 3 mois) allaités par leur mère peuvent être protégés par les anticorps maternels, en particulier vis-à-vis des infections à rotavirus. Chez l'enfant et les personnes âgées, les gastro-entérites aiguës peuvent être sévères. Elles se manifestent par une diarrhée après une incubation de 1 à 3 j ; celle-ci est accompagnée ou non de vomissements, de fièvre et de dou-

3. Diagnostic des gastro-entérites virales

Le diagnostic direct des gastro-entérites virales, abordé dans le chapitre suivant, repose sur la disponibilité de trois techniques principales : la microscopie électronique, la détection des antigènes viraux et celle du génome viral. L'examen par microscopie électronique a l'avantage de permettre la détection de l'ensemble des virus. Cependant, c'est une technique peu sensible, coûteuse et chaque échantillon doit être traité individuellement par un opérateur entraîné. Ce n'est donc pas une technique utilisable pour le diagnostic de routine.

La recherche d'antigène directement dans les selles par des méthodes d'agglutination-latex est possible en diagnostic de routine pour les rotavirus du groupe A et les adénovirus 40 et 41. Les réactifs disponibles sont relativement sensibles et d'utilisation facile (tests unitaires, sans appareillage spécifique).

La détection du génome viral par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour les virus à ADN (adénovirus) ou par RT-PCR pour les virus à acide ribonucléique (ARN) (rotavirus, calicivirus, astrovirus), offre de nouvelles possibilités d'investigation biologique. Complétées par une hybridation ou un séquençage, ce sont les seules méthodes capables de déceler les calicivirus et les rotavirus des groupes B et C.

Les indications du diagnostic dépendent du contexte. Durant la période hivernale, la fréquence des gastro-entérites virales est telle (80 à 85 % des diarrhées hivernales) que c'est le premier diagnostic évoqué. Le diagnostic virologique est rarement nécessaire en cas de gastro-entérites communautaires. En revanche, dans les institutions, les services hospitaliers et les collectivités, il est très important de prévenir l'introduction et la diffusion de ces virus. Aussi, le diagnostic virologique doit être effectué chez tous les patients présentant des signes de gastro-entérite. En dehors de la période hivernale, les virus sont responsables de gastro-entérites nosocomiales et d'épidémies sporadiques ayant pour origine une contamination alimentaire ou hydrique.

4. Pour en savoir plus

Atmar RL, Estes MK. Diagnosis of noncultivable gastroenteritis viruses, the human caliciviruses. Clin Microbiol Rev 2001 ; 14 : 15-37.

Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. Lancet 1973 ; 2 : 1281-3.

Bon F, Fascia P, Dauvergne M, Tenenbaum D, Planson H, Petion AM, et al. Prevalence of group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France. J Clin Microbiol 1999 ; 37 : 3055-8.

Bon F, Fromantin C, Aho S, Pothier P, AZAY group. G and P genotyping of rotavirus strains circulating in France over a three-year period : detection of G9 and P [6] strains at low frequencies. J Clin Microbiol 2000 ; 38 : 1681-3.

Bridger JC, Pedley S, McCrae MA. Group C *Rotaviruses* in humans. J Clin Microbiol 1986 ; 23 : 760-3.

Chiba S, Sakuma Y, Numata-Kinoshita K, Honma S. *Sapporo virus* : history and recent findings. J Infect Dis 2000 ; 181 (suppl) : 303-8.

Stratégie diagnostique des diarrhées d'allure virale

Élisabeth Nicand



Le manque d'hygiène et les conditions de vie précaires favorisent l'émergence des maladies liées au péril fécal, quel que soit le statut socio-économique des pays. Ce sont, principalement, les enfants et les personnes fragilisées qui sont les cibles privilégiées des diarrhées aiguës infectieuses. Dans les pays en voie de développement, les diarrhées sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité élevées. Chaque année, 1,1 à 1,7 milliard d'épisodes diarrhéiques infectieux sont diagnostiqués chez les enfants de moins de 5 ans, dont 30 à 40 % des cas sont d'origine virale, les rotavirus étant les agents les plus fréquemment impliqués. La contamination se fait par voie féco-orale, soit par transmission directe par contact avec des sujets infectés éliminant les virus dans les selles, soit par transmission indirecte à partir d'aliments souillés par les excreta fécaux. Chez le patient immunocompétent, les diarrhées aiguës d'allure virale, volontiers de courte durée (moins d'une semaine en général), se déclarent au cours de petites épidémies au sein de collectivités (cellule familiale, institutions fermées : crèches, hôpitaux) ou se manifestent au cours de cas sporadiques, suite à des voyages en zone tropicale par exemple.

Difficilement cultivables in vitro, la mise en évidence de ces virus entéropathogènes repose avant tout sur les méthodes de diagnostic rapide directement à partir de l'échantillon de selles, essentiellement grâce à des techniques immunologiques. Cependant, le choix de la technique se fait en fonction des moyens du laboratoire, de la durée et de la gravité de l'épisode diarrhéique, ou de contextes particuliers (études épidémiologiques, épidémies). Devant un tableau de diarrhée aiguë, la combinaison de plusieurs méthodes permet d'identifier des infections mixtes soit strictement virales, soit associant des infections d'origine bactérienne et parasitaire.

1. Méthodes diagnostiques

1.1. Diagnostic direct

1.1.1. Microscopie électronique

Premières méthodes à être développées dès les années 1970, la microscopie électronique (ME) et l'immunomicroscopie électronique sont les seules techniques capables de détecter tous les virus dans les selles *(tableau 1)*. Cependant, ces techniques sont limitées par leur médiocre sensibilité (10^{6-7} particules virales/g de selles), et leur manque de spécificité, bien que l'immunomicroscopie permette d'améliorer la détection des virus entériques. Outils non utilisés en routine, ils restent les seuls capables de visualiser des agents viraux, tels que les coronavirus et les torovirus pour lesquels il existe peu d'autres moyens de détection.

1.1.2. Détection des antigènes viraux

Les trousses de détection des rotavirus (groupe A) et des adénovirus (sérotypes 40–41, principalement impliqués dans les diarrhées virales), par agglutination de particules de latex sensibilisées à l'aide d'anticorps monoclonaux (ACMC) ou polyclonaux (ACPC), sont disponibles sur le marché depuis de

novirus (détection d'un antigène de genre) et les astrovirus (test utilisant des ACMC spécifiques de groupe). Ces techniques présentent l'avantage d'être sensibles (sensibilité de 10 à 100 fois supérieure à celle de la microscopie électronique), avec une spécificité évaluée de 95 à 99 % selon les réactifs.

Pour les autres virus entéropathogènes, en particulier les calicivirus et les astrovirus, le clonage de leur génome viral et la production de protéines recombinantes, telles que la nucléoprotéine de capside du virus de Norwalk exprimée dans le baculovirus, ont permis de préparer des ACMC ou des ACPC contribuant à la mise au point de méthodes Elisa *(tableau 1)*. Récemment, les rotavirus du groupe C ont pu être détectés avec la disponibilité de tests immuno-enzymatiques basés sur la capside interne recombinante VP6. Cependant, la détection des antigènes viraux directement à partir des échantillons de selles, est limitée par l'absence de trousses commercialisées. Ces tests sont essentiellement utilisés lors d'enquêtes épidémiologiques, démontrant ainsi l'impact de ces virus dans les épisodes diarrhéiques aigus.

1.1.3. Techniques de biologie moléculaire

Au début des années 1990, l'accessibilité des techniques de biologie moléculaire à un grand nombre de laboratoires, a favorisé le développement de nouveaux outils diagnostiques. C'est le cas en particulier des calicivirus humains appartenant aux genres *Norovirus* et *Sapovirus*. En effet, l'utilisation de la RT-PCR est actuellement la technique de choix pour le diagnostic des infections à calicivirus. Suivant les études publiées, plusieurs systèmes ont été développés en fonction de la région amplifiée. Il s'agit, le plus souvent, de RT-PCR multiplex en une étape (étapes de rétrotranscription et d'amplification dans le même tube), ou en deux étapes (étape de rétrotranscription puis d'amplification). Cette technique utilise plusieurs amorces, compte tenu de la variabilité des souches, capables d'amplifier la partie 3' de l'ORF1 codant pour l'acide ribonucléique (ARN) polymérase *(figure 1)*, et/ou une partie ou la totalité de l'ORF2. L'hybridation des fragments d'ADN amplifiés avec des sondes spécifiques améliore la spécificité et la praticabilité de ces techniques

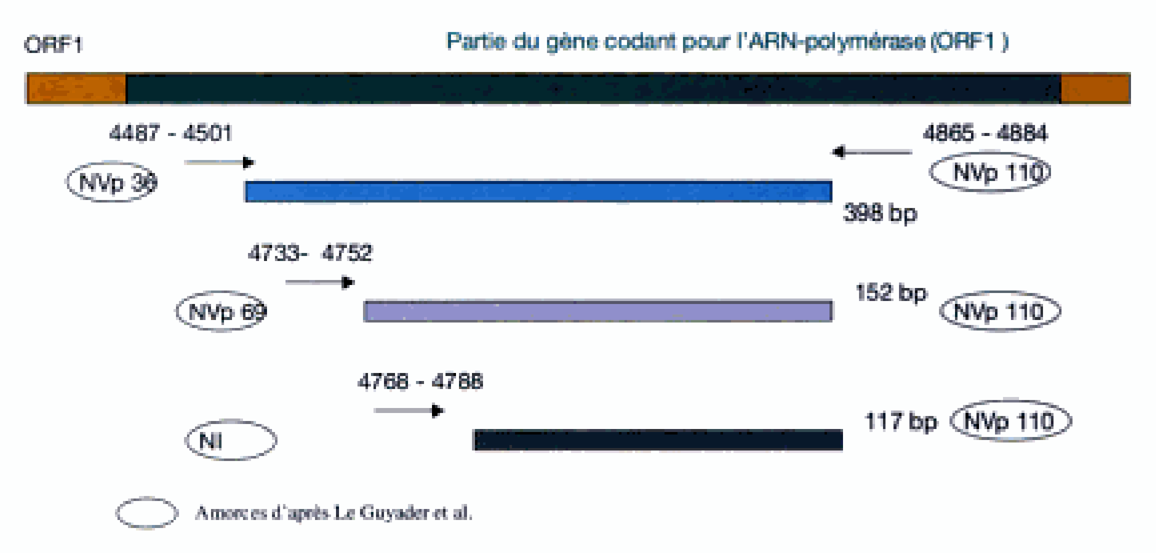


Figure 1. Position des amorces publiées permettant de détecter les calicivirus par RT-PCR.

par rapport à la révélation des produits d'amplification, après coloration du gel de migration au bromure d'éthidium. L'utilisation d'un témoin interne d'inhibition pour chaque échantillon de selle permet de détecter la présence éventuelle d'inhibiteurs d'amplification génique après extraction.
Avec un seuil de détection évalué de 10^2 à 10^4/g de selles, ces méthodes actuellement les plus sensibles, ont permis de démontrer l'impact des calicivirus dans des épisodes diarrhéiques, au cours d'épidémies ou dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques. Ce sont également des outils performants pour mesurer la durée de l'excrétion fécale, et démonter ainsi la contagiosité potentielle des excreta. Ils permettent de détecter des virus non identifiés par d'autres méthodes, tels que les rotavirus des groupes B et C, alors que leurs répartitions géographiques sont limitées à certaines régions définies : Chine pour les rotavirus du groupe B, cas sporadiques pour les virus du groupe C.
Le séquençage et l'électrophorèse en gel de polyacrylamide sont des techniques volontiers réservées à l'étude épidémiologique de souches circulantes, montrant la diversité de population virale, telle que celle des calicivirus, que ce soit chez les humains ou dans l'environnement. Rappelons que le séquençage complet de plusieurs souches de calicivirus et l'analyse phylogénétique de produits d'amplification ont permis une réactualisation de la classification en 2002 des calicivirus par le Comité international de taxonomie des virus avec la création du genre *Norovirus* dont le virus type est le virus de Norwalk et du genre *Sapovirus* avec le virus *Sapporo-like* comme virus type et la création du genre *Manastrovirus* regroupant les astrovirus de l'homme. L'épidémiologie moléculaire des rotavirus a contribué à étudier le mécanisme de réassortiment génétique dans l'évolution de ces virus, critère important à connaître pour la mise au point de vaccins efficaces. Enfin, récemment, le séquençage complet du gène codant pour la protéine de capside des astrovirus a permis, à partir de selles diarrhéiques d'enfants d'Égypte et du Malawi, d'identifier un 8e génotype au sein de ce genre viral.

1.2. Tests sérologiques

Ce sont les progrès en biologie moléculaire qui ont contribué à la production de protéines recombinantes et au développement de nouveaux tests Elisa. L'intérêt de la sérologie est de rendre possible de nombreuses études séro-épidémiologiques, en particulier vis-à-vis des calicivirus et des astrovirus, d'étudier l'immunité humorale systémique au cours d'infections par les calicivirus, ou le rôle protecteur des anticorps sécrétoires de type *IgA* au cours de l'allaitement, vis-à-vis des infections à rotavirus chez les nouveau-nés.

2. Pour en savoir plus

Ando T, Monroe SS, Gentsch JR, Jin Q, Lewis DC, Glass RI. Detection and differentiation of antigenically distinct small round structured viruses by reverse transcription. PCR and southern hybridization. J Clin Microbiol 1995 ; 33 : 64-71.

Gault E, Garbarg-Chenon A. Épidémiologie moléculaire des rotavirus. Rev Fr des Lab 2000, 320 : 55-62.

Glass R, Noel J, Ando T, Fankhauser R, Belliot G, Mounts A, et al. The epidemiology of enteric *caliciviruses* from humans : a reassessment using new diagnostics. J Infect Dis 2000 ; 181 (suppl 2) : S254-61.

James VLA, Lambden PR, Caul EO, Clarke. Enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant human group C rotavirus inner capsid protein (VP6) to detect human group C rotaviruses in fecal samples. J Clin Microbiol 1998 ; 36 : 3178-81.

Le Guyader F, Estes MK, Hardy ME, Neill FH, Green J, Brown DW, et al. Evaluation of a degenerate primer for the PCR detection of human *caliciviruses*. Arch Virol 1996 ; 141 : 2225-35.

Monroe SS, Holmes JL, Belliot GM. Molecular epidemiology of human *astroviruses*. Novartis Found Symp 2001 ; 238 : 237-45.

Taty Taty R, Lebon P. Étude des réactifs Diarlex LA et Diarlex MB pour la détection directe des rotavirus et des adénovirus dans les selles. Ann Biol Clin 2002 ; 60 : 697-700.

Walter JE, Briggs J, Guerrero ML, Matson DO, Pickering LK, Ruiz-Palacios G, et al. Molecular characterization of a novel recombinant strain of human astrovirus associated with gastroenteritis in children. Arch Virol 2001 ; 146 : 2357-67.

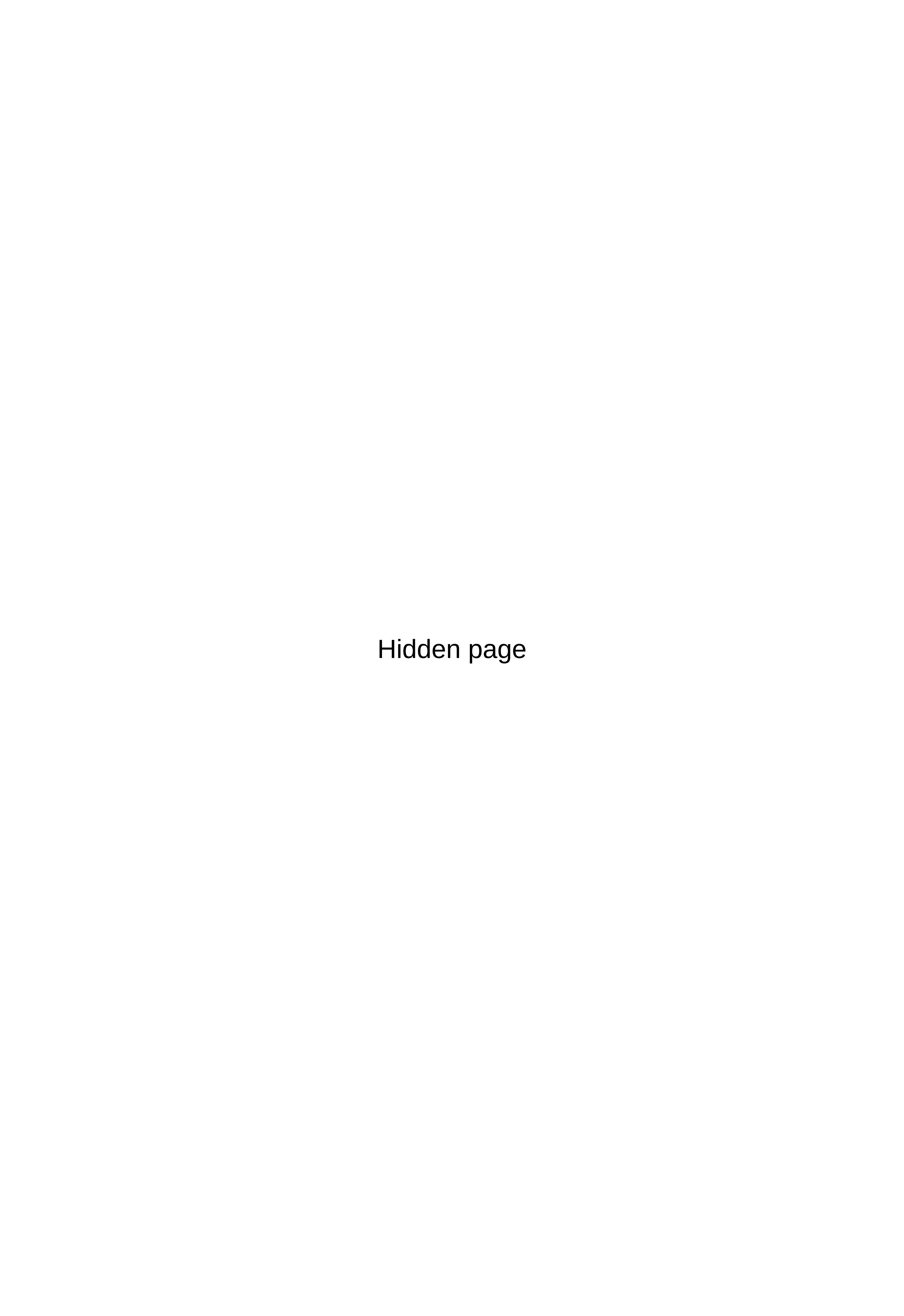
www.danforthcenter.org/iltab/ICTVnet à propos de la taxonomie des virus (réunion de l'International Committee on Taxonomy of Viruses, en 2002).

Diarrhées infectieuses aiguës

Diarrhées aiguës parasitaires

Marc Morillon




Hidden page

– habitudes et comportements : la notion de pratiques homosexuelles masculines augmente le risque de protozooses ;
– terrain : la connaissance d'une infection par le VIH attirera l'attention sur les coccidies (*Cryptosporidium, Isospora*).

1. Agents pathogènes et diagnostic au laboratoire

En l'absence de technique universelle, permettant de mettre en évidence avec la même efficacité tous les agents responsables, un choix sera nécessaire et ce seront les renseignements cliniques qui l'orienteront.
Les techniques disponibles en parasitologie sont extrêmement nombreuses. Ne pouvant les envisager toutes ici, nous n'aborderons que celles qui sont de réalisation aisée pour la plupart des laboratoires.

1.1. Amibes pathogènes

Elles sont aujourd'hui considérées comme des parasites tropicaux, mais leur prédominance dans les régions chaudes du globe est plus liée aux facteurs du sous-développement qu'aux conditions climatiques. Rappelons la découverte du parasite en Russie en 1875, et les épidémies du front de Champagne en 1914–1918.
L'invasion de la paroi colique par les amibes et la création d'abcès sous-muqueux, peuvent se traduire par une symptomatologie bruyante (la dysenterie amibienne), mais les formes plus frustes sont fréquentes et se limitent à une diarrhée banale, quelquefois accompagnée de filets de sang dans les selles et de douleurs abdominales. Il sera important de porter le diagnostic avant qu'apparaissent les localisations viscérales, en particulier hépatique.

1.2. *Entamoeba histolytica* ou *dispar*

Les observations réalisées par Emile Brumpt dès 1925, se sont vues confirmées en 1993, 68 ans plus tard, par la reconnaissance de deux espèces morphologiquement semblables, mais au comportement différent : *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar*. Seule la première, capable de donner des formes hématophages, est pathogène.
Cela confirme que seule la découverte de formes hématophages, donc contenant des hématies observables, permet d'affirmer la présence et la responsabilité de *Entamoeba histolytica* dans un épisode de diarrhée aiguë. L'observation de formes végétatives ou de kystes doit tout au plus permettre de répondre « présence de *Entamoeba histolytica/dispar* ». Tout doit donc être tenté pour mettre en évidence les formes hématophages mobiles. La mobilité particulière de ces parasites permet, en effet, le diagnostic différentiel, quelquefois difficile pour un observateur non entraîné, avec des macrophages ayant ingéré des hématies, que l'on peut observer dans les colites inflammatoires. C'est dire l'importance de la qualité du prélèvement et des conditions dans lesquelles il doit être traité.

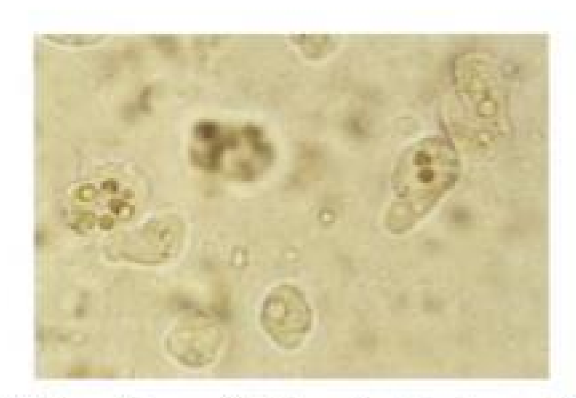


Figure 1. *Entamoeba histolytica* : formes végétatives dont plusieurs sont hématophages. État frais. Objectif 40.

1.2.1. Examen à l'état frais : mise en évidence d'amibes hématophages mobiles

Elle ne pourra bien se faire que si le biologiste est informé de la suspicion d'amibiase, et si tout est fait pour que l'échantillon soit traité dans les meilleurs délais. Les formes végétatives sont fragiles, elles peuvent s'immobiliser en quelques dizaines de minutes et se lyser en quelques heures. Voilà pourquoi il est nécessaire d'effectuer le prélèvement au laboratoire. Une fois l'échantillon recueilli, le biologiste s'attachera à prélever spécifiquement les glaires et le mucus qui lui sont associés, éléments les plus riches en parasites. L'examen se fera d'abord à l'état frais, entre lame et lamelle, la lame ayant été réchauffée préalablement avec la flamme d'un briquet, ou placée quelques minutes à l'étuve à 37 °C après montage. La lamelle doit être lutée pour éviter les mouvements liquidiens.

L'analyse des formes végétatives mobiles s'attache à plusieurs caractères (*figure 1*) :

– la taille : 12 à 40 µm ;

– la mobilité : les cellules sont mobiles par émission de pseudopodes hyalins transparents. Le cytoplasme granuleux de l'amibe coule ensuite dans le pseudopode et le remplit. L'amibe se déplace dans une seule direction, « gardant un cap » ;

– le cytoplasme : il est essentiel de visualiser des individus dont le cytoplasme contient des hématies ; celles-ci sont de tailles diverses, mais ont gardé une nette coloration rouge (*figure 2*) ;

– le noyau est peu visible à l'état frais dans les formes mobiles vivantes, il sera plus facile à visualiser sur les formes en voie de lyse. La coloration trouve ici toute son importance.

Notons que cet examen à l'état frais pourra permettre de repérer d'autres éléments : formes végétatives non hématophages et kystes. Ces derniers seront encore plus facilement identifiés après concentration.

1.2.2. Colorations

Les parasitologues disposent de nombreux artifices pour faciliter l'observation des noyaux d'amibes. Malheureusement, celles qui donnent les meilleurs résultats sont les plus complexes, et elles utilisent des produits posant des problèmes d'élimination, comme le chlorure mercurique (APV trichrome). D'autres, spécifiées dans la nomenclature (*tableau 3*), comme l'hématoxyline ferrique

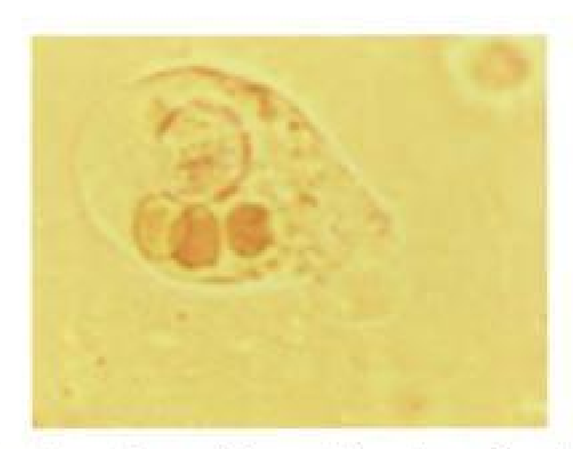


Figure 2. *Entamoeba histolytica* : forme végétative hématophage. Pseudopode hyalin en avant du déplacement du parasite. Objectif 100.

Tableau 3. Nomenclature concernant les différentes recherches pouvant entrer dans le cadre du diagnostic parasitologique d'une diarrhée aiguë.

Numéro d'ordre	Nature de l'examen	Cotation
0286	Sur selles récemment émises, avec deux méthodes de concentration complémentaires, suivant le contexte géographique, pathologique ou biologique du malade (les noms des méthodes doivent figurer sur le compte rendu d'examens)	B 95
0259	Examen parasitologique de selles émises au laboratoire en vue de la recherche extemporanée de formes végétatives de protozoaires, et d'identification des formes végétatives d'amibes et/ou d'autres protozoaires par coloration élective : MIF* et/ou noir chlorazol et/ou hématoxyline.	B50
0288	Examen parasitologique des selles émises au laboratoire, comportant l'ensemble des deux examens 0259 et 0286.	B 145
0290	Recherche de *Cryptosporidium* par coloration élective ou immunofluorescence, dans les selles fraîchement émises.	B 60
0264	Recherche sur selles récemment émises de larves d'anguillules par la technique d'extraction de Baermann (à l'initiative du directeur de laboratoire, suivant les antécédents géographiques du patient).	B 25

* MIF : Merthiolate–iode–formol.

et le noir chlorazol, se révèlent de réalisation complexe pour un laboratoire qui n'aura à les utiliser qu'occasionnellement.

Parmi les méthodes simples, et donnant de bons résultats, il reste la coloration MIF (Merthiolate–iode–formol).

Dans ces conditions, les éléments suivants seront retenus en faveur du diagnostic :

– noyau vésiculeux de 3 à 8 µm (selon la taille de l'amibe) ;
– membrane nucléaire fine et tapissée de grains fins de chromatine ;
– caryosome petit, punctiforme et central.

Que peuvent apporter les méthodes de concentration ?

Celles-ci seront d'autant plus facilement mises en œuvre que la première étape de l'analyse à l'état frais n'aura pas été contributive. Sans s'appesantir

ici sur les différentes méthodes utilisables (la nomenclature en impose deux), elles viseront principalement à détecter et à analyser des kystes. Le diagnostic final, dans ce cas, ne pouvant être qu'*E. histolytica ou dispar*, il ne permettra qu'une orientation, la décision thérapeutique dépendant alors du contexte.

Il est donc nécessaire de différencier ces kystes de ceux des autres espèces d'amibes qui ne sont pas pathogènes : kystes arrondis, de 12 à 14 µm contenant un, deux ou quatre noyaux ronds, et ayant les mêmes caractéristiques (chromatine et caryosome) que ceux des formes végétatives.

Les examens devront toujours être répétés en cas de négativité de la recherche initiale, et si les symptômes la rendent possible. Les réactivations par purgation saline n'ont pas leur place dans un contexte de diarrhée aiguë.

La culture est une technique qui figure à la nomenclature, et n'est que peu utilisée en pratique. Son succès dépend de la quantité de parasites ensemencés, et elle n'augmente pas la sensibilité de l'examen microscopique direct. Son intérêt réside surtout dans l'obtention de grandes quantités d'amibes pour des études complémentaires dans des laboratoires spécialisés.

1.2.3. Autres méthodes de diagnostic

1.2.3.1. Méthodes immunologiques

Il existe aux États-Unis, différents kits commerciaux qui permettent de détecter les antigènes spécifiques de *E. histolytica* ou *dispar*, par méthode immunoenzymatique. S'ils apparaissent beaucoup plus sensibles que l'examen microscopique, ils ne renseignent en rien sur les stades du parasite présent, et notamment sur la présence de formes hématophages. Leur place dans un contexte de diarrhée aiguë reste donc encore à préciser.

1.2.3.2. Biologie moléculaire

Ces sont ces méthodes qui ont permis d'individualiser l'espèce *E. dispar* de *E. histolytica*. Des sondes d'ADN ont pu être fabriquées, capables de différencier les deux espèces. Ces méthodes n'ont pas, à l'heure actuelle, d'application pratique au diagnostic. De la même façon, l'amplification de fragments d'ADN génomique par réaction de polymérase en chaîne (PCR), qui a pu être menée avec succès dans des conditions expérimentales, n'est pas standardisée et ne peut être aujourd'hui proposée en situation clinique.

Rappelons enfin que les techniques sérologiques recherchant des anticorps spécifiques, si elles sont indispensables dans le cas particulier d'amibiase hépatique, n'ont aucun intérêt dans les atteintes coliques.

> Une amibiase colique ne peut être affirmée que par la mise en évidence de formes végétatives mobiles, hématophages de *Entamoeba histolytica*.
> Toutes les autres techniques permettent seulement de détecter la présence de *Entamoeba histolytica ou dispar*.

1.3. *Giarda intestinalis*

C'est le protozoaire le plus fréquent, et d'ailleurs le plus anciennement connu, sa description étant contemporaine de l'invention du microscope. Ce parasite est cosmopolite, mais son incidence dépend étroitement des conditions d'hygiène. Les symptômes provoqués associent classiquement diarrhée, nausées et douleurs abdominales. C'est le seul flagellé vivant dans le duodénum ; on laissera ici de côté la recherche par tubage duodénal, réservée à l'exploration des diarrhées chroniques que peut induire ce parasite. Lorsque l'atteinte s'étend à l'intestin grêle, les formes végétatives peuvent se trouver dans les selles. En cas d'atteinte moins étendue, on trouvera au moins les kystes. La présence de l'une ou de l'autre de ces formes, associée aux signes cliniques, contribue au diagnostic, même s'il existe des porteurs asymptomatiques de kystes.

1.3.1. Examens sans colorations

1.3.1.1. Formes végétatives mobiles *(figure 3)*

Leur grande mobilité facilite leur repérage. Cependant, les parasites s'immobilisent très vite et l'échantillon doit aussi être examiné très rapidement. Le parasite a globalement la forme d'une cuillère, avec une dépression dans sa partie antérieure. Vu d'au-dessus, l'aspect évoque celui d'un cerf-volant de 10 à 20 µm sur 5 à 12 µm ; de profil, la forme est celle d'un croissant. Il est mobile grâce à quatre longs flagelles qui courent le long du parasite et se prolongent vers l'arrière. Les noyaux sont plus difficiles à voir.

1.3.1.2. Kystes

Les kystes *(figure 4)* sont, la plupart du temps, très abondants et faciles à reconnaître : ovoïdes, de 12 × 8 µm en moyenne, entourés d'une coque réfringente peu épaisse. On reconnaît, à l'intérieur, les flagelles qui se disposent en S, donnant l'impression d'une cloison interne longitudinale, et 2 à 4 noyaux. Les méthodes de concentration s'avèrent plus utiles pour le dépistage des porteurs asymptomatiques que pour le diagnostic d'une diarrhée aiguë.

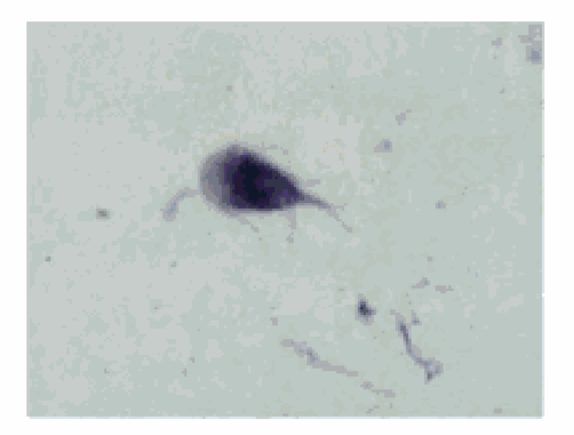


Figure 3. *Giardia intestinalis* : forme végétative. Coloration de Giemsa. Grossissement × 100.



Figure 4. *Giardia intestinalis* : kyste. Coloration de MIF. Objectif 40.

1.3.2. Après coloration

Les mêmes colorations que celles utilisées pour les amibes, permettent de visualiser les noyaux et les flagelles des formes végétatives. Les colorations de MIF ou de Bailenger donnent de bons résultats. La coloration de Giemsa est également utilisable. Pour les kystes, la coloration au Lugol ou au MIF peut faciliter l'observation des structures internes.

1.3.3. Autres méthodes

Plusieurs fabricants proposent des trousses permettant de mettre en évidence les antigènes spécifiques de *Giardia intestinalis* par méthode immuno-enzymatique. L'intérêt de ces méthodes mérite encore d'être évalué dans le cas d'une parasitose, où les agents responsables sont présents en abondance et facilement détectés par la microscopie.

Giardia intestinalis est le protozoaire le plus fréquemment rencontré et le plus cosmopolite.

1.4. *Cryptosporidium parvum*

Protozoaire de la sous-classe des coccidies, *C. parvum* est un parasite très résistant dans le milieu extérieur, sous forme d'oocystes. Parasite à la fois des animaux d'élevage et de l'homme, sa transmission féco-orale est d'autant plus fréquente que l'environnement socio-économique est défavorable. Plus connu aujourd'hui parce qu'il s'est montré fréquent chez les malades atteints de sida, ce parasite peut être aussi responsable de diarrhées chez le sujet immunocompétent. À côté de la transmission semi-directe (maladie des mains sales), le mode de transmission principal semble être la consommation d'eau contaminée. Fréquente dans les pays à faible niveau d'hygiène et, semble-t-il, en Europe de l'Est, cette contamination est aussi possible dans les pays industrialisés, les oocystes résistant aux méthodes de traitement de l'eau et notamment de chloration. L'épidémie de Milwaukee, avec ses 400 000 victimes en 1993, en est le témoin.

L'intérêt qu'il y a de rechercher ce parasite est d'autant plus important à souligner, que cette recherche nécessite l'emploi de colorations spécifiques.

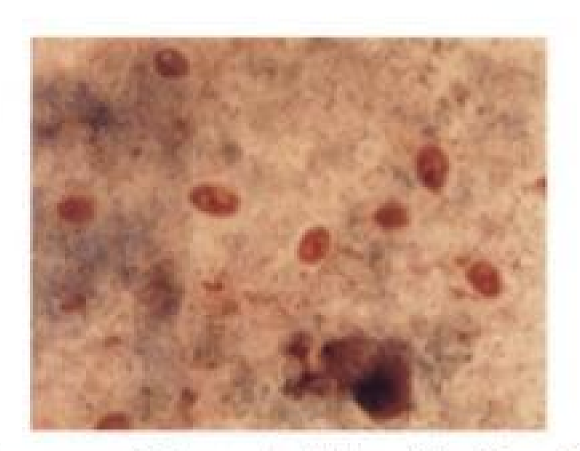


Figure 5. *Cryptosporidium parvum*. Coloration de Ziehl modifiée. Objectif 100.

Les signes d'appel sont extrêmement variables, la diarrhée pouvant être profuse au début et quelquefois accompagnée de fièvre et de vomissements. Une diarrhée sanglante est également possible.

1.4.1. Diagnostic parasitologique

Il repose sur la mise en évidence des oocystes dans les selles *(figure 5)*. L'attention peut être attirée, dès l'examen à l'état frais, par la présence de nombreuses formations arrondies ou ovalaires de 4 à 6 µm. En l'absence d'autre élément morphologique spécifique, elles peuvent être confondues avec de nombreux autres organismes présents dans les selles. Un coloration spécifique est nécessaire. La coloration de Ziehl-Neelsen modifiée repose sur l'acido-alcoolo, résistance des oocystes qui vont apparaître en rouge sur le fond vert de la contrecoloration au vert malachite. Les autres microorganismes de la même taille apparaissent en vert. La sensibilité du dépistage peut être accrue par un enrichissement préalable : méthode de Ritchie utilisant le formol à 10 %. Le marquage des oocystes par des anticorps monoclonaux fluorescents est également possible.

1.4.2. Autres méthodes

De la même façon que pour les deux parasites précédents, des trousses commerciales permettent la mise en évidence des antigènes spécifiques du parasite. Un tel choix devra se faire en mettant en balance l'expérience de l'examinateur et le coût de la méthode.

Cryptosporidium est un parasite fréquent. Ses kystes résistent à la plupart des méthodes de traitement de l'eau de boisson. Sa fréquence chez le sujet immunocompétent est vraisemblablement sous-estimée.

1.5. *Cyclospora cayetanensis*

Cette coccidie est de connaissance plus récente, et son écologie semble proche de celle de *C. parvum*, même si l'existence d'un réservoir animal reste encore à démontrer dans son cas. La résistance des oocystes dans le milieu extérieur et la possibilité de transmission de ce parasite par l'eau de boisson, les rapprochent

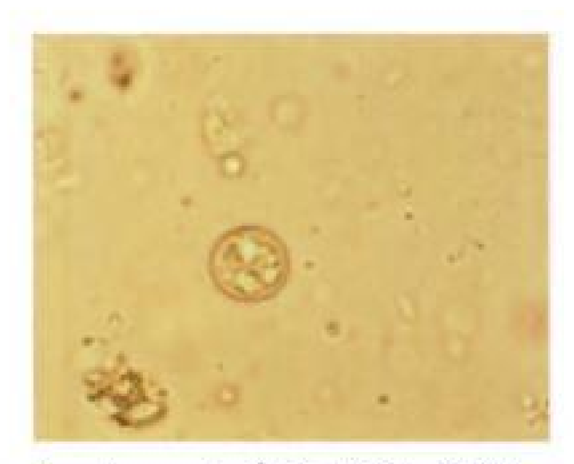


Figure 6. *Cyclospora cayetanensis* : oocyste. État frais. Objectif 100.

encore. Ubiquitaire mais largement plus fréquent en milieu tropical, ce protozoaire doit être considéré comme l'un des responsables des diarrhées du voyageur, singulièrement en provenance d'Asie ou d'Amérique tropicales.

1.5.1. Diagnostic parasitologique

À l'état frais, les oocystes se présentent comme des formations arrondies de 8 à 10 µm. Autrement dit, leur taille est le double de celle de *Cryptosporidium*. La paroi double est très réfringente et l'oocyste contient une masse cytoplasmique constituée d'un amas de globules réfringents verdâtres *(figure 6)*. Les parasites peuvent aussi être vus après coloration de Ziehl modifiée. La coloration est, dans ce cas, hétérogène et c'est leur taille qui permet la différenciation avec *Cryptosporidium*. La recherche de cet agent pathogène peut bénéficier d'un enrichissement préalable comme dans le cas précédent.

1.6. *Isospora belli*

Ces coccidies se rencontrent principalement dans les régions tropicales et chez les immunodéprimés vivant ou ayant vécu dans ces régions. Ce sont les formes de résistance, les oocystes, qui sont ingérées et qui libèrent dans le duodénum et le jéjunum les sporozoïtes, qui, rapidement, vont envahir les entérocytes. La diarrhée, qui peut débuter sur un mode aigu, évolue facilement vers la chronicité en raison de l'atrophie villeuse entraînée par les lésions cellulaires.

1.6.1. Diagnostic parasitologique

Les oocystes peuvent être recherchés à l'état frais sans coloration, avec ou sans enrichissement préalable, par une technique de sédimentation au formol-éther. Les kystes sont transparents, incolores et ovales, de 30 µm × 20 µm en moyenne, entourés par une coque mince et réfringente *(figure 7)*. Ils contiennent une seule cellule arrondie qui n'occupe pas tout le volume du kyste.

1.7. *Strongyloides stercoralis*

Ce nématode est répandu dans toutes les régions tropicales, y compris les DOM-TOM, où il parasite 30 à 60 millions de personnes. Les cas signalés



Figure 7. *Isospora belli.* Oocyste. État frais. Objectif 40.



Figure 8. *Strongyloides stercoralis.* Culture sur gélose : méthode de Arakaki.

en Europe méridionale sont plus rares. La contamination est transcutanée lors du contact de la peau avec de la boue contaminée. Les larves infestantes, strongyloïdes, gagnent la circulation et après un cycle tissulaire complexe, les adultes s'installent dans l'intestin. Les œufs éclosent dans l'intestin et ce sont des larves rhabditoïdes non infestantes qui sont éliminées dans les selles. La diarrhée s'accompagne fréquemment de douleurs abdominales, surtout épigastriques. Un prurit anal ou une éruption cutanée peuvent être évocateurs.

1.7.1. Diagnostic parasitologique

Il est rendu difficile à la fois par le faible nombre de larves éliminées chaque jour et par le caractère intermittent de cette élimination.

Il est donc nécessaire :

– d'utiliser des techniques d'enrichissement ;

– de répéter l'examen sur plusieurs jours, non pas consécutifs mais avec des intervalles de l'ordre d'une semaine.

La technique d'enrichissement prévue par la *Nomenclature des actes de biologie médicale* est la technique de Baermann, qui met à profit l'attirance des larves pour l'eau tiède.

La technique de culture sur gélose de Arakaki permet un repérage facile des parasites avec une excellente sensibilité *(figure 8)*.



Figure 9. *Schistosoma mansoni*. MIF. Objectif × 40.

La recherche d'anticorps spécifiques, peu contributive, ne doit pas être utilisée pour l'exploration d'une diarrhée aiguë.

1.8. Bilharzioses

Plusieurs espèces du genre *Schistosoma* peuvent être impliquées dans la bilharziose intestinale : *S. mansoni* se rencontre à la fois en Afrique, en Arabie Saoudite et en Amérique tropicale. *S. intercalatum* est exclusivement limité à l'Afrique équatoriale. *S. japonicum et S. mekongi* sont exclusivement asiatiques. Les symptômes accompagnant la diarrhée sont variables, avec la possibilité d'émission de glaires, de sang, ou même d'un syndrome dysentérique. La notion de fièvre et/ou d'hyperéosinophilie dans les semaines précédentes, celle d'un bain en eau douce, peuvent orienter vers ce diagnostic.

1.8.1. Diagnostic parasitologique

Les troubles digestifs étant contemporains de l'élimination des parasites, tout sera fait pour mettre en évidence le parasite par l'examen direct. L'élimination des œufs est intermittente, et la répétition des examens parasitologiques est nécessaire. Ces œufs sont plus abondants à la superficie de la selle. La recherche au grossissement × 10, permet de les repérer facilement grâce à leur morphologie caractéristique. Les plus fréquemment observés sont ceux de *S. mansoni* ; ce sont des œufs bruns, mesurant de 110 à 170 µm dans leur grand axe, et dont la coque porte un important éperon latéral en épine de rosier *(figure 9)*. Suivant l'orientation de l'œuf sous l'objectif, il peut être nécessaire de le faire tourner par de petits coups sur la lamelle pour visualiser cet éperon. L'œuf contient un miracidium, embryon cilié.

La biopsie rectale, examen très sensible pour la recherche des œufs, ne sera pratiquée que si la diarrhée se prolonge et si les recherches parasitologiques classiques sont restées négatives *(figure 10)*.

Le rendement de la recherche des helminthes est amélioré par la répétition des examens, qui doivent être effectués non pas plusieurs jours consécutifs, mais séparés par des intervalles de plus de 48 h.

Un contrôle parasitologique de l'efficacité du traitement est nécessaire et, dans un certain nombre de cas, une deuxième cure médicamenteuse s'avère utile. Nous proposons, dans le *tableau 3*, une nomenclature concernant les différentes recherches pouvant entrer dans le cadre du diagnostic parasitologique d'une diarrhée aiguë.

Les examens parasitologiques des selles apportées au laboratoire comprennent :

– un examen macroscopique et microscopique direct : helminthes et leurs œufs, protozoaires et leurs kystes ;

– une recherche microscopique des œufs et kystes après concentration.

2. Pour en savoir plus

Beaugerie L. Stratégie d'exploration des diarrhées aiguës. La lettre de l'Infectiologue 2000 ; 15 : 386-90.

Carré D, Chapalain JC, Debonne JM, Klotz F. Diarrhées infectieuses aiguës. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris) Maladies Infectieuses 8-003-V-10. 2000 ; 16 p.

Golvan YJ, Ambroise TP. Nouvelles techniques en parasitologie. Paris : Flammarion Médecine–Sciences ; 1984.

Guerrant RL. *Cryptosporidiosis*, an highly infectious emerging threat. Emerg Infect Dis 1997 ; 3 : 51-7.

Klotz F. Prise en charge des diarrhées aiguës. Acta Med Int Gastroenterol 1999 ; 4 : 509-11.

Ortega YR, Adam RD. *Giarda* : overview and update. Clin Infect Dis 1997 ; 25 : 540-5.

Petithorry JC, Ardouin-Guidon F, Chaumeil C. Amibes et flagellés intestinaux. Paris : Cahier de Formation Bioforma ; 1998.

hospitalisés pour diarrhée à rotavirus à Paris : la moyenne est plus basse qu'au Pays-Bas, probablement parce qu'à Paris 40 % des nourrissons sont allaités, contre plus de 80 % aux Pays-Bas *(figures 1* et *3)*.

Les enquêtes sur l'âge des enfants hospitalisés sont absolument nécessaires. En effet, les vaccins futurs seront délivrés pendant les premiers mois de vie. Dans les pays industrialisés où la mortalité est faible, l'effet du vaccin sera jugé sur le taux d'hospitalisation. Si une majorité d'enfants est hospitalisée avant l'âge où la vaccination est complète, on risque de sous-estimer son efficacité.

1.1.3. Aspects épidémiologiques

Dans les pays en voie de développement, les infections à rotavirus sont endémo-épidémiques. En revanche, dans les pays industrialisés, elles sont épidémiques, survenant à dates fixes d'une année à l'autre. La *figure 2* montre les pics épidémiques récents en région parisienne. Les pics sont relativement fixes mais peuvent varier d'une région à l'autre, même proche. La *figure 3* montre les pics groupés sur une période de 5 ans au Royaume-Uni, aux Pays-Bas et à Paris. L'acmé varie de décembre à avril.

1.1.4. Aspects cliniques

Les infections dues à rotavirus sont généralement plus sévères que les infections à d'autres virus. La fièvre est plus importante et le nombre de convulsions hyperpyrétiques plus élevé. Les rotavirus peuvent donner des diarrhées d'allure invasive chez le jeune enfant. D'autre part, le rotavirus détermine une maladie inflammatoire importante, entraînant la montée des protéines de l'inflammation : les taux de C-réactive protéine (CRP) et d'IL6 sont souvent élevés et le virus provoque une sécrétion d'interféron alpha dans plus de 72 % des cas.

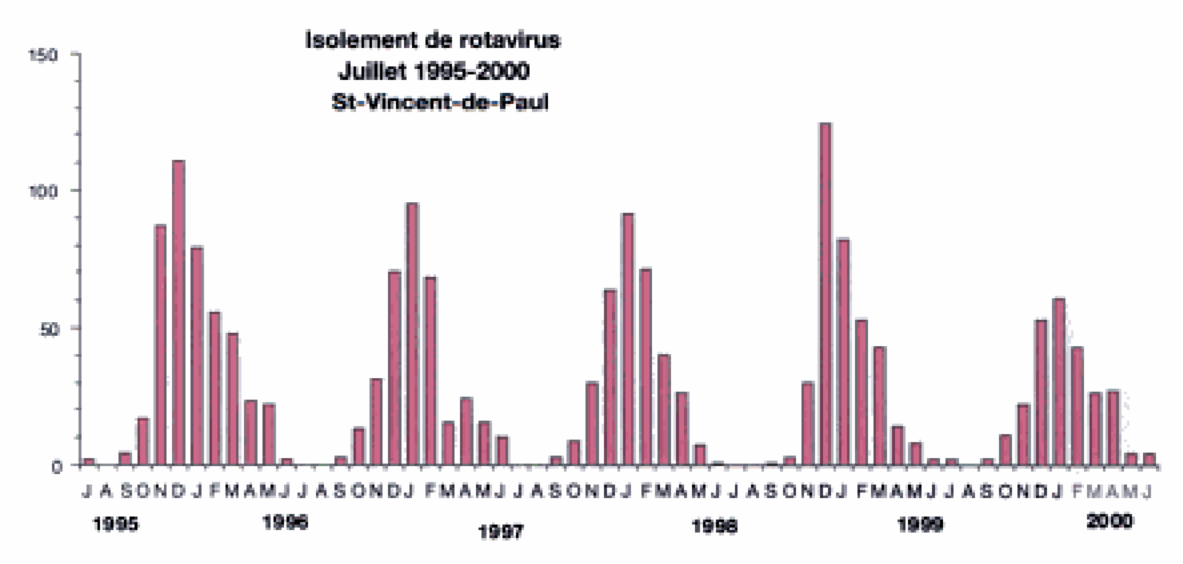


Figure 2. Isolements de rotavirus chez des enfants hospitalisés pour diarrhée communautaire à l'hôpital de Saint-Vincent-de-Paul.

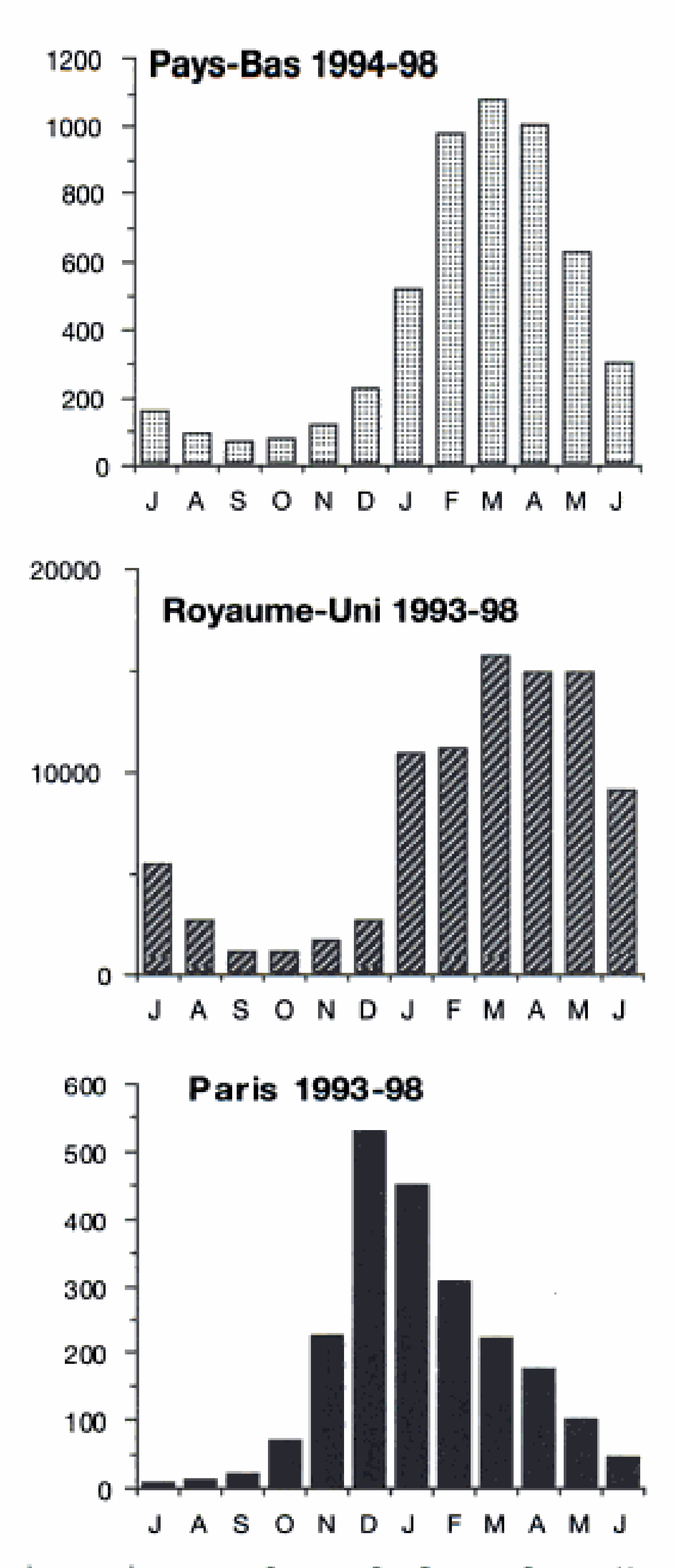


Figure 3. Pics épidémiques de rotavirus à Paris, aux Pays-Bas et au Royaume-Uni pendant les mêmes années : décalage important dans le temps.

1.2. Autres virus des GEA infantiles

Les études systématiques manquent en raison des difficultés de mise en place des tests spécifiques. Les adénovirus (sérotypes 40 et 41) représenteraient 3 à 4 % des diarrhées infantiles, et les astrovirus 5 à 7 % des causes.
La place des calicivirus est plus difficile à déterminer. Il faut recourir à des techniques de réactions de polymérase en chaîne (PCR) lourdes, en raison de la multiplicité des souches. Les calicivirus seraient à l'origine de 10 à 15 % des diarrhées de l'enfant. Leur nombre est probablement plus élevé chez le grand enfant et l'adulte, que chez le nourrisson de moins de 2 ans où les rotavirus sont huit à dix fois plus fréquents. Les virus Norwalk et « *Norwalk-Like* », humains et animaux, décrits depuis 1972, en font partie.

2. Diarrhées bactériennes

Les causes bactériennes ne peuvent être prouvées que par la pratique de la coproculture, or celle-ci n'est pas toujours pratiquée en pédiatrie, tant on considère que toutes les diarrhées aiguës de l'enfant sont d'origine virale. Elles sont donc sous-estimées en pédiatrie, en particulier les diarrhées dues à *Campylobacter jejuni*, car en grande partie elles guérissent spontanément.
Les causes bactériennes ne seront abordées ici que dans leurs caractéristiques spécifiques à l'enfant, car elles font l'objet de chapitres particuliers, pour l'adulte.

2.1. Salmonelles

Les diarrhées à salmonelles de l'enfant représentent la deuxième cause identifiée dans notre expérience : 10 à 12 % des diarrhées hospitalisées en pédiatrie. Les salmonelloses de l'enfant sont d'origine autochtone : 20 % des cas seulement surviennent au retour d'un séjour à l'étranger. Elles sont presque exclusivement dues aux salmonelles improprement appelées mineures, en particulier *Salmonella typhimurium* (45 % des cas dans l'expérience de Saint-Vincent-de-Paul) et *Salmonella enteritidis* (28 % des cas).
Les diarrhées à salmonelles chez l'enfant présentent toujours un risque d'invasivité. Dans la série de Saint-Vincent-de-Paul, seuls 42 % des patients ont eu une guérison spontanée rapide, les autres ayant dû recevoir des antibiotiques en raison des signes d'invasivité (diarrhée glairosanglante ou fièvre persistante). Cela concerne aussi les cas de toxi-infection alimentaire collective (TIAC), où une hémoculture a été positive dans 10 % des cas de notre série. La gravité du tableau clinique des salmonelloses de l'enfant est totalement imprévisible, aussi l'indication de l'antibiothérapie doit être portée en urgence sur des critères uniquement cliniques. En effet, *S. typhi* et *paratyphi* A et B, qui nécessitent toujours un traitement antibiotique, ne représentent que 2,5 % des cas.
Un des problèmes particuliers de la pédiatrie est la fréquence et la longueur du portage asymptomatique des salmonelles après un épisode aigu. Celui-ci dépend avant tout de l'âge : 50 % des enfants de moins de 5 ans excrètent

encore des salmonelles dans leurs selles 4 à 6 semaines après la diarrhée initiale, contre 16 % des adultes.
Contrairement à ce qui a été affirmé à partir d'un seul travail à la méthodologie contestable, un traitement antibiotique ne prolonge pas le portage.

2.2. Shigelles

Elles sont toujours à l'origine d'infections graves. La mortalité est élevée, de 1 à 2 % en France, jusqu'à 15 % dans les épidémies du tiers monde. Les shigelles autochtones dans les pays industrialisés sont *Shigella boydii* et *Shigella sonnei*, mais les formes les plus sévères sont provoquées par *Shigella dysenteriae* et *Shigella flexneri*.
Le tableau est très variable, allant de la simple diarrhée spontanément résolutive au syndrome dysentérique avec choc et convulsions. Enfin, des symptômes hémolytiques et urémiques sont possibles. Il est important de rechercher les shigelles, pour les traiter d'abord, car l'antibiothérapie est nécessaire, et pour les déclarer ensuite, car une enquête épidémiologique s'impose.

2.3. *Escherichia coli*

Les colibacilles sont les principaux commensaux du tube digestif. Certaines souches peuvent être à l'origine de diarrhées, mais seule la mise en évidence des facteurs de virulence, apanage des laboratoires de recherche, permet de les individualiser. Un chapitre de cet ouvrage y est consacré, et nous ne ferons que les citer. Leur importance réelle dans les gastro-entérites aiguës de l'enfant en France est mal connue car ils ne sont pas systématiquement recherchés.
Escherichia coli entéropathogène (ECEP) a été à l'origine de diarrhées de collectivités importantes dans les années 1950 et 1960, en particulier les sérotypes O111 et O55.
Escherichia coli entérotoxinogène (ECET) est une des causes des diarrhées bactériennes des pays en voie de développement et de diarrhée des voyageurs.
Escherichia coli entéro-invasif (ECEI) est génétiquement proches des shigelles et cause des syndromes dysentériques.
Escherichia coli entérohémorragique (ECEH) a été décrite à la suite d'une épidémie, et une nouvelle souche, *E. coli* O157:H7, a été identifiée. Elle produit une vérotoxine qui est à l'origine du syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez 5 à 10 % des enfants excrétant cette souche. Même si les cas de SHU sont beaucoup plus rares en Europe qu'aux États-Unis ou au Japon, il est indispensable d'identifier le germe et sa vérotoxine. D'autres types de *Escherichia coli* et quelques shigelles peuvent être également à l'origine de SHU.

2.4. *Campylobacter jejuni*

Les infections à *Campylobacter* sp. sont très répandues atteignant à la fois le jeune enfant et l'adulte. Leur fréquence est sous-estimée, car même si une coproculture est pratiquée, elle n'est souvent positive qu'après 4 à 5 j de

culture, ce qui n'est pas pratiqué par tous les laboratoires. Des systèmes de surveillance systématique en Angleterre, dans les années 1980, ont montré que *C. jejuni* était plus fréquemment isolé que les *Salmonella* (cas regroupant enfants et adultes). Dans l'expérience pédiatrique de Saint-Vincent-de-Paul, l'isolement n'est pas rare : quatre fois moins fréquent que les *Salmonella*, mais deux fois plus fréquent que les *Shigella*. La fréquence est importante dans le tiers monde, et en particulier le portage asymptomatique de *C. jejuni* y semble beaucoup plus habituel que dans les pays industrialisés.

L'incubation est de 48 h. Dans un tiers des cas, il s'agit d'une diarrhée simple et transitoire, légèrement fébrile. Dans un tiers des cas, il s'agit d'une diarrhée très fébrile et prolongée, souvent sanglante, avec vomissements et douleurs abdominales ; un syndrome inflammatoire avec CRP élevée n'est pas rare. Dans un nombre relativement important de cas, il existe une bactériémie souvent sans conséquence. La guérison est habituellement spontanée, même dans les formes sévères. Les antibiotiques ne sont indiqués que dans les formes prolongées.

3. Traitement des diarrhées infectieuses aiguës de l'enfant

Une diarrhée aiguë est toujours potentiellement grave chez l'enfant, mais les variations des tableaux cliniques sont telles qu'on ne peut définir des indications thérapeutiques applicables à tous les cas. L'analyse clinique est très supérieure aux données fournies par la biologie. Aucun marqueur biologique ne peut remplacer l'œil du médecin entraîné : les décisions de réhydratation, éventuellement de traitement antibiotique, doivent être prises en urgence, avant une aggravation importante, car même dans les pays industrialisés, la mortalité est loin d'être négligeable.

Les solutions de réhydratation par voie orale ont représenté un progrès considérable : elles doivent être systématiquement utilisées chez le jeune enfant. Les antibiotiques ne sont indiqués que dans de rares cas, mais ils sont alors indispensables pour traiter la prolifération bactérienne à hauteur de la muqueuse intestinale, et la diffusion inéluctable. Quant aux autres médicaments antidiarrhéiques, antiseptiques ou épaississants, et surtout ralentisseurs du transit, ils sont inutiles et souvent dangereux chez l'enfant.

Enfin et surtout, il faut donner le temps à la diarrhée de guérir. Les lésions de la muqueuse, entraînées par les rotavirus, cause la plus fréquente des diarrhées, sont importantes. Le transit et l'absorption intestinale ne peuvent se régulariser en quelques heures. Pendant la phase aiguë de réplication virale au niveau des entérocytes, tout va très vite et la déshydratation menace : les solutions de réhydratation orale sont indispensables au cours des 24 à 48 premières heures. Ensuite, vient la phase de cicatrisation de la muqueuse. La réalimentation progressive est alors la principale préoccupation. Il faut plusieurs jours avant que le transit ne soit régularisé.

B... Florian, 11 mois Diarrhée à rotavirus

Figure 4. Réhydratation par voie orale chez un enfant hypernatrémique (hôpital de Saint-Vincent-de-Paul).

Enfin et surtout, il faut longuement expliquer aux parents et aux infirmières combien il est important de respecter, dans les SRO, l'équilibre entre glucose et sodium. C'est pourquoi il faut bien veiller à ne pas mélanger les SRO à l'alimentation. Au cas où il existerait des problèmes d'acceptabilité, on peut en édulcorer le goût avec des petites quantités de sirop, mais on ne doit jamais les mélanger à des jus de fruits ou à des sodas, ce qui changerait considérablement la concentration et l'équilibre osmolaires.
Au total, chez le jeune enfant, toutes les formes de diarrhée doivent bénéficier d'une tentative de traitement par les SRO. Les échecs, vomissements incoercibles, diarrhée profuse avec déshydratation nécessitant une perfusion, lésions buccales gênant l'alimentation, sont finalement assez rares.

3.3. Antibiotiques

Les antibiotiques ne sont indiqués, à titre systématique au cours des diarrhées bactériennes, qu'en cas de shigellose et de diarrhées accompagnant une fièvre typhoïde. À ces recommandations émises par l'OMS et universellement acceptées, il faut ajouter pour l'enfant les formes graves de salmonelloses, à vrai dire rares en regard du grand nombre de diarrhées bénignes à salmonelles. La grande majorité des épisodes diarrhéiques dus à des bactéries entéropathogènes guérissent spontanément. Mais, dans les formes graves, l'antibiothérapie doit être appliquée sans retard.

3.3.1. Salmonelloses

L'immense majorité des salmonelloses digestives de l'enfant sont bénignes. Seule la fièvre typhoïde (due à *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A, B

ou C) requiert systématiquement un traitement antibiotique. Mais elle est exceptionnelle chez l'enfant avant l'âge de 3 ans, et toute la difficulté tient aux nombreuses infections dues aux salmonelles non typhoïdiques qui peuvent être létales chez l'enfant et le vieillard.

Les septicémies à salmonelles sont une indication à la mise sous antibiotique. Cependant, la notion de gravité doit être nuancée. En effet, les bactériémies à salmonelles sont fréquentes au cours des diarrhées à salmonelles, y compris dans les cas de guérison spontanée. Une partie des bactériémies positives à salmonelles surviennent chez des enfants ayant un épisode diarrhéique fébrile bref et spontanément résolutif. Cependant, l'association d'une hémoculture positive avec une fièvre et une diarrhée glairosanglante doit, à l'évidence, entraîner l'administration d'antibiotiques.

Les antibiotiques les plus utilisés dans les salmonelloses ont d'abord été les phénicolés. Le cotrimoxazole a souvent été proposé, mais son utilité reste faible dans les salmonelloses graves. Pour des raisons de toxicité hématologique, on a tendance à privilégier les bêta-lactamines. Elles ont une faible pénétration intracellulaire. Elles vont donc être actives pendant la phase de dissémination et amener à la guérison de l'épisode infectieux aigu. En revanche, elles ne peuvent pas atteindre tous les foyers intracellulaires. C'est l'explication des rechutes de la fièvre typhoïde malgré un traitement bien conduit. Le traitement le plus efficace des salmonelloses de l'adulte sont les fluoroquinolones, qui combinent à une remarquable activité sur les salmonelles, une forte pénétration intracellulaire. Cependant, elles ne peuvent pas être employées en première intention en pédiatrie, pour des raisons de toxicité articulaire potentielle chez l'enfant.

3.3.1.1. Gastro-entérites aiguës à salmonelles

Les gastro-entérites aiguës à salmonelles ne requièrent aucun traitement antibiotique si elles sont brèves et rapidement résolutives. Quand la diarrhée à salmonelles se prolonge au-delà de 4 j, même sans fièvre, le traitement antibiotique est cependant utile et contribue à raccourcir la durée de la diarrhée. La seule indication au traitement systématique concerne le jeune nourrisson au-dessous de l'âge de 6 mois, où le risque de bactériémie est important avec possibilité de localisations secondaires (méningites).

3.3.1.2. Salmonelloses sévères

Les salmonelloses sévères avec signes d'invasivité (diarrhée sanglante et profuse, fièvre persistante, atteinte de l'état général) imposent un traitement antibiotique. Il est habituel de débuter par une céphalosporine de 3e génération, injectable (type ceftriaxone), pour un traitement de 3 à 5 j.

Les fluoroquinolones seront prescrites en cas d'échec clinique de la ceftriaxone, et jamais en première intention.

3.3.2. Shigelloses

Les dysenteries bacillaires sont un problème majeur de santé publique, particulièrement chez l'enfant. Elles sont causées par *Shigella* spp. et *E. coli* entéro-invasifs (très proches des shigelles, dont ils possèdent les gènes de virulence), et sont responsables de nombreuses diarrhées dans les pays dévelop-

pés (2 à 5 % des diarrhées bactériennes en Europe occidentale). La mortalité est élevée dans le tiers monde, mais loin d'être négligeable en Occident. Le tableau clinique est variable, allant des diarrhées aqueuses guérissant spontanément aux dysenteries aiguës glairosanglantes avec choc toxique.

Les résistances bactériennes sont venues compliquer de façon importante les indications de l'antibiothérapie. Cela ne concerne pas seulement le tiers monde, mais également les pays développés : *S. sonnei*, responsable de l'épidémie de l'été 1996 à Paris, était résistante à l'amoxicilline et aux phénicolés. En Afrique et en Asie, les résistances augmentent considérablement. Le traitement de première intention par l'ampicilline (100 $mg \cdot kg^{-1} \cdot j^{-1}$) ou le cotrimoxazole (50 $mg \cdot kg^{-1} \cdot j^{-1}$), conseillé par l'OMS, est peu efficace en raison de ces résistances. Les fluoroquinolones (ciprofloxacine 20 mg/j) représentent le traitement le plus efficace.

3.4. Autres médicaments

Des médicaments non absorbés, qui persistent dans la lumière intestinale, sont souvent prescrits au cours des diarrhées aiguës. Le bismuth est interdit en France, mais les silicates (attapulgite ou diosmectite) sont assez souvent utilisés. L'OMS déconseille leur utilisation dans les diarrhées aiguës de l'enfant. D'une façon générale, les silicates contribuent à réduire le nombre de selles par jour et la durée des selles liquides. Ils n'ont pas d'action sur le phénomène sécrétoire. Il s'agit donc de médicaments purement symptomatiques, agissant sur l'aspect des selles et non sur la diarrhée elle-même. Ce sont des médicaments de confort. Quant au racécadotril, inhibiteur de l'enképhalinase et antisécrétoire, son action pourrait être intéressante, mais on manque de données sur son innocuité, le premier essai contrôlé avait montré un iléus important sur une centaine d'enfants traités.

Les ralentisseurs du transit peuvent être dangereux. En effet, un iléus transitoire est possible, avec septicémie d'origine digestive, et des décès ont été décrits chez le jeune nourrisson, souvent dus à des surdosages. Pour cette raison, le lopéramide n'est pas autorisé chez le nourrisson de moins de 2 ans, et on doit respecter cette interdiction.

Chez l'enfant de plus de 2 ans, le problème principal est celui de l'automédication familiale. Les ralentisseurs du transit (et en particulier le lopéramide) apportent chez l'adulte un confort réel en diminuant le nombre de selles. La répétition des prises, chez l'enfant entre 2 et 10 ans, risque d'entraîner une somnolence et des iléus. Le lopéramide est contre-indiqué en cas de diarrhée bactérienne (risque de pullulation microbienne au cours de l'iléus). Dans les autres cas, il est difficile d'obtenir des familles qu'elles se limitent à une ou deux doses quotidiennes. Il est donc préférable de s'abstenir.

4. Pour en savoir plus

Bon F, Fromantin C, Aho S, Pothier P, Kohli E. G and P genotyping of rotavirus strains circulating in France over a three-year period : detection of G9 and P[6] strains at low frequencies. The AZAY Group. J Clin Microbiol 2000 ; 38 : 1681-3.

ESPGAN Working Group. Recommendations for composition of oral rehydratation solutions for the children of Europe. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1992 ; 14 : 113-5.

Gendrel D, Aujard Y. Les quinolones en pédiatrie. Arch Ped 1995 ; 2 : 409-11.

Glass RI, Kilgore PE, Holman RC, et al. The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United-States : surveillance and estimates of disease burden. J Infect Dis 1996 ; 174 (suppl 1) : S5-S11.

Organisation mondiale de la santé. Usage rationnel des médicaments dans le traitement des diarrhées aiguës de l'enfant. Genève : OMS Ed ; 1992 : 1 vol.

Toxi-infections alimentaires collectives

Yves Buisson

- Qu'est-ce qu'une Tiac ?
- Comment reconnaître une Tiac ?
- Pourquoi faire une enquête ?
- Comment mener l'enquête ?
- Conclusion
- Pour en savoir plus



Tableau 1. Répartition des foyers de Tiac déclarés aux Ddass ou aux DSV, selon l'agent responsable (France, 1993–1998).

Agents identifiés	1993	1994	1995	1996	1997	1998	Nombre	Pourcentage
Salmonella	200	267	185	162	201	267	1282	45
Clostridium perfringens	32	29	10	15	13	18	117	4
Staphylococcus aureus	37	60	32	34	32	48	243	9
Bacillus cereus	3	4	2	2	1	7	19	0,5
Shigella	6	6	0	3	3	4	22	1
Histamine	12	8	5	9	4	13	51	2
Autres agents	6	18	4	4	11	16	59	2
Total	296	392	238	229	265	373	1793	63
Agents non identifiés	72	141	152	184	212	287	1048	37
Total	368	533	390	413	477	660	2841	100

Les aliments en cause diffèrent suivant l'espèce bactérienne. Les staphylocoques se multiplient surtout dans les charcuteries, les produits à base d'œufs ou de lait, et les plats cuisinés, la contamination, souvent d'origine humaine, résultant d'une faute d'hygiène. *B. cereus* est une bactérie sporulée présente dans la terre, les fruits et les légumes. Le syndrome émétique survient souvent après consommation de riz réchauffé : c'est le classique « syndrome du restaurant chinois ».

B. cereus peut aussi produire une entérotoxine thermosensible qui est détruite par un chauffage à 56 °C pendant 5 min. Cette toxine, qui provoque un syndrome diarrhéique, 12 à 18 h après le repas contaminant, est élaborée in vivo. Elle peut être préformée dans l'aliment et entraîner une Tiac, si celui-ci est consommé sans chauffage préalable.

1.2. Infection

La pullulation bactérienne dans un aliment peut aboutir à l'ingestion d'une quantité de germes entéropathogènes suffisante pour déborder les capacités désinfectantes de la barrière gastrique, une faible proportion de ces bactéries parvenant à coloniser la muqueuse intestinale. Il existe un seuil quantitatif défini par la dose minimale infectante ou, de façon plus précise, par la dose infectieuse 50 % (DI50), variable suivant la virulence de la bactérie et l'efficacité des défenses de l'hôte.

Les symptômes de gastro-entérite aiguë apparaissent après 12 à 48 h d'incubation, et régressent spontanément en 2 à 5 j. Ils résultent de différents mécanismes physiopathologiques, détaillés dans un autre chapitre de cet ouvrage : essentiellement l'invasion de la muqueuse et l'élaboration d'une toxine in vivo.

1.2.1. Invasion de la muqueuse intestinale

Ce mécanisme est en cause dans les Tiac à *Salmonella enterica*, à *Shigella*, à certains pathovars d'*Escherichia coli*, à *Campylobacter jejuni* et à *Yersinia*

enterocolitica. Les salmonelloses représentent la première cause de Tiac (71 % des foyers déclarés en France entre 1993 et 1998, dans lesquels l'agent a été identifié). Les shigelloses sont plus rares (1 %), et les autres agents entéro-invasifs exceptionnellement identifiés *(tableau 1)*.

Deux sérovars de *S. enterica* arrivent largement en tête des agents responsables de Tiac depuis près de 15 ans : *S. enteritidis* (60 %) et *S. typhi murium* (16 %). De nombreux aliments peuvent être impliqués (œufs, volailles, viandes, lait, fruits de mer). Les aliments à base d'œufs sont en cause dans 61 % des cas, cette prédominance étant liée à la diffusion mondiale de *S. enteritidis* dans les élevages de poulets.

Les *Shigella* sont capables de provoquer une entérocolite aiguë après ingestion d'un très faible inoculum bactérien. La phase de multiplication préalable ex vivo n'est donc pas indispensable à leur transmission, la contamination superficielle d'un aliment par de l'eau souillée ou par des mains sales pouvant suffire.

C. jejuni a aussi une DI50 peu élevée, de l'ordre de 100 bactéries. Il est surtout transmis par les produits laitiers et les volailles.

Y. enterocolitica se distingue par sa propriété de se multiplier à +4 °C, et se trouve favorisée par l'utilisation de la chaîne du froid. Les aliments contaminés sont surtout d'origine animale (lait et ses dérivés, volailles, viandes, abats).

1.2.2. Élaboration d'une toxine in vivo

La toxinogenèse in vivo est un mécanisme lié à la sporulation dans le cas de *Clostridium perfringens*, à la germination des spores dans le cas de *B. cereus* et à la colonisation de l'épithélium intestinal pour certains *E. coli* et *Vibrionaceae*.

Les Tiac à *C. perfringens* représentent 6,5 % des foyers déclarés en France entre 1993 et 1998, dans lesquels l'agent a été identifié ; les autres agents entérotoxinogènes sont exceptionnellement rapportés *(tableau 1)*. *C. perfringens* est une bactérie anaérobie stricte, sporulée, qui peut contaminer de nombreux aliments, en particulier les viandes ; la germination des spores et la production d'entérotoxine sont favorisées par le maintien prolongé à température ambiante de l'aliment, après sa cuisson. Les symptômes apparaissent après une période d'incubation moyenne de 6 à 24 h, et régressent rapidement en quelques heures.

Les *E. coli* entérotoxinogènes, transmis par l'eau non potable ou par des aliments contaminés par l'eau ou les mains sales, représentent la première cause de diarrhée des voyageurs. Ils sont toutefois moins souvent incriminés dans les épisodes de Tiac que les *E. coli* entérohémorragiques (sérotype O:157), qui sont principalement transmis par la viande contaminée ou par le lait cru. Les autres pathotypes, tels que les *E. coli* entéropathogènes, sont plus rarement identifiés.

Parmi les *Vibrionaceae*, le vibrion cholérique peut provoquer des bouffées épidémiques meurtrières, mais il est rarement à l'origine d'accidents collectifs d'origine alimentaire. En revanche, *Vibrio parahaemolyticus*, transmis par consommation de poissons ou de fruits de mer, est un des principaux agents de Tiac au Japon et dans les pays tropicaux.

2. Comment reconnaître une Tiac ?

Le diagnostic de Tiac est évident lorsque plusieurs personnes ayant partagé le même repas sont subitement atteintes de troubles digestifs, quelques heures plus tard. Quand la règle des trois unités du théâtre classique est respectée : le temps (simultanéité des cas), le lieu (focalisation des cas) et l'action (même symptomatologie), la relation de cause à effet est vite établie. Mais ce n'est pas toujours aussi simple : la survenue des cas peut s'étaler dans le temps, lorsque la période d'incubation est longue ou que la contamination n'est pas unique, mais répétée. Ils peuvent aussi se disperser dans l'espace lorsqu'il s'agit, par exemple, des clients d'un restaurant ou que l'aliment contaminé est distribué par une chaîne de supermarchés. Enfin, l'origine alimentaire de l'accident n'est pas toujours évoquée, surtout lorsque la symptomatologie est extradigestive.

Dans plus de 90 % des cas, il s'agit en effet d'une gastro-entérite aiguë, associant de façon variable un malaise général avec nausées, crampes épigastriques, vomissements, diarrhée, fièvre, hypotension. Il existe des formes sévères avec déshydratation, plus souvent observées chez le nourrisson ou chez les personnes âgées, et pouvant nécessiter une hospitalisation.

Plus rares, mais plus préoccupants, des symptômes neurologiques peuvent être révélateurs d'un botulisme ou d'une listériose neuroméningée. En revanche, les manifestations vasomotrices, par intoxication histaminique après consommation de certains poissons appartenant à la famille des *Scombridae* (thon, germon, bonite, maquereau), sont spectaculaires mais fugaces, et généralement sans gravité. Enfin, il faut savoir évoquer une origine alimentaire devant une épidémie brutale d'angines aiguës streptococciques survenant dans une collectivité. Il faut aussi penser, dans certaines collectivités ou dans certaines conditions particulières, à un phénomène psychogénique de masse, lorsque les symptômes sont essentiellement subjectifs et qu'on ne peut mettre en évidence aucun trouble organique patent.

3. Pourquoi faire une enquête ?

Une Tiac n'est jamais le fruit du hasard. Qu'elle survienne après un modeste repas de famille ou après un banquet somptueux, qu'elle perturbe la vie d'une collectivité en restauration scolaire ou d'entreprise, elle résulte toujours d'une succession d'erreurs ou de lacunes qu'il faut rapidement déceler tout au long de la chaîne de préparation ou de distribution des aliments. La correction immédiate des anomalies détectées est le seul moyen de prévenir efficacement les récidives.

Événement inattendu, brutal, souvent dramatique et parfois catastrophique, une Tiac peut, par son ampleur, saturer temporairement les capacités des services sanitaires et générer des coûts élevés de prise en charge. De plus, une moyenne de sept décès par an en France est imputable aux Tiac. C'est donc un risque inacceptable pour la collectivité.

Les médecins inspecteurs de Santé publique des Ddass, et les vétérinaires inspecteurs des DSV sont responsables de l'enquête épidémiologique et vétérinaire, destinée à identifier les aliments responsables et tous les facteurs ayant contribué à la survenue de l'accident, afin de mettre en place des mesures préventives.
C'est pourquoi toute Tiac doit faire l'objet d'une déclaration à l'autorité sanitaire départementale (Ddass ou DSV). Cette déclaration est obligatoire : « d'une part pour tout docteur en médecine qui en a constaté l'existence, d'autre part, pour le principal occupant, chef de famille ou d'établissement, des locaux où se trouve le malade ».

4. Comment mener l'enquête ?

C'est une véritable enquête policière. Les indices à relever sont cliniques, microbiologiques, hygiéniques et culinaires. Il faut suivre une méthodologie rigoureuse, tout en faisant preuve d'intuition. Il ne faut pas méconnaître les intérêts parfois très importants qui sont en jeu, et être capable de résister à de fortes pressions. Dans les collectivités, il faut calmer et rassurer les patients et leur entourage, lorsque l'afflux de malades provoque un climat d'affolement propice aux rumeurs alarmistes et aux décisions inappropriées. Enfin, il ne faut pas perdre de temps pour effectuer les interrogatoires, l'indifférence succédant rapidement à l'angoisse chez les victimes rétablies qui échappent à l'enquêteur ou s'empressent d'oublier les mets consommés.
Le but de l'enquête est d'apporter une réponse à chacune des quatre questions suivantes :
– Qui est le coupable ? En d'autres termes, quel est l'agent infectieux responsable de la Tiac ?
– Quel est le receleur ? Parmi tous les aliments solides ou liquides consommés dans les 72 h précédentes, quel est celui qui recelait la toxine ou la dose microbienne infectante ?
– Quels sont les complices actifs ? Comment le pathogène a-t-il pu contaminer l'aliment ?
– Quels sont les complices passifs ? Comment le pathogène a-t-il pu se multiplier dans l'aliment ?

4.1. Recueil d'informations générales

Ce sont les données de base nécessaires pour toute enquête épidémiologique, relatives :
– aux personnes : qui est atteint ? (membres d'une famille, clients d'un restaurant, malades d'un hôpital, etc.) ; quelle est la gravité des cas ? (nombre d'hospitalisations, de décès) ;
– à l'espace : quelle est l'ampleur du phénomène ? (école, quartier, région, etc.) ;
– au temps : les cas sont-ils concomitants ou dispersés ? (jours, semaines).

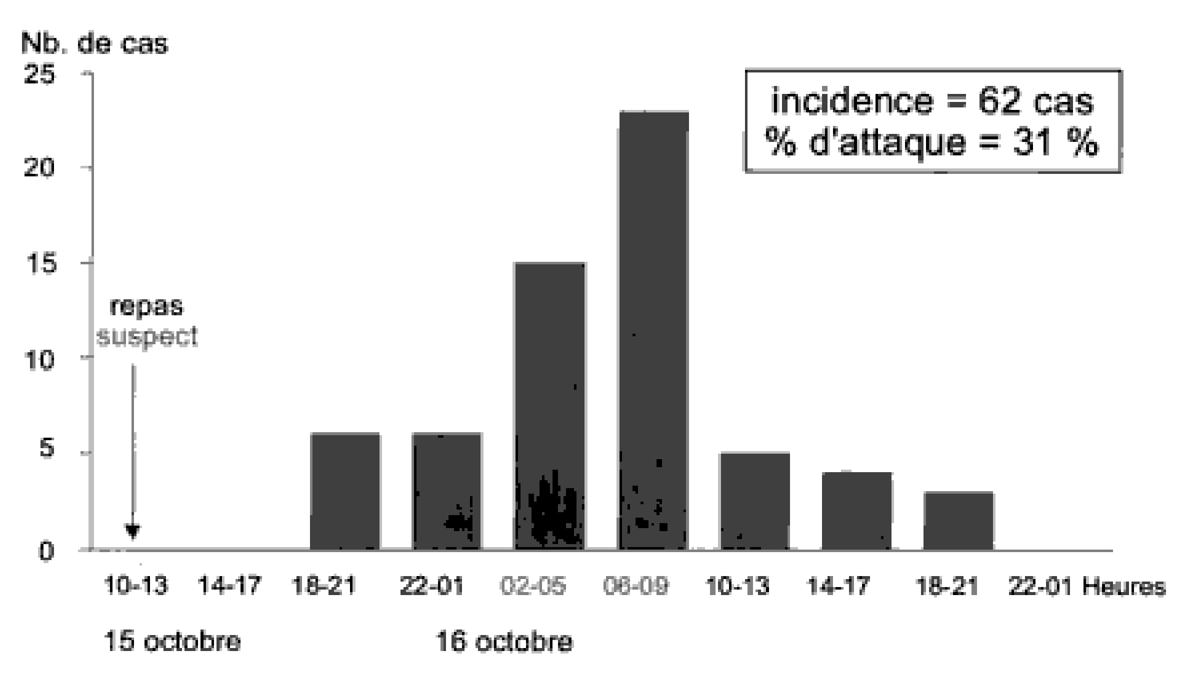


Figure 3. Courbe épidémique d'une Tiac à *Escherichia coli* entéropathogène.

Une hémoculture est licite en cas de fièvre élevée. D'autre prélèvements peuvent être nécessaires s'il existe des manifestations extradigestives.

Lorsque des aliments peuvent être transmis au laboratoire, qu'il s'agisse de restes de repas familiaux ou de repas témoins réglementairement conservés à +4 °C pendant 72 h en restauration collective, deux types d'examens peuvent être effectués : soit un contrôle de la qualité microbiologique des aliments, soit une recherche directe d'un agent pathogène ou d'une toxine préformée. Dans le premier cas, il s'agit d'examens standardisés, réalisables sur différents échantillons alimentaires, dont les résultats permettront de juger de la qualité globale de la chaîne alimentaire. En revanche, la recherche directe de l'agent responsable de la Tiac n'est rentable que lorsque l'aliment en cause a été identifié et lorsqu'on sait ce qu'on cherche ; cette analyse bactériologique doit donc toujours être orientée avec les données cliniques décrites au chapitre précédent. Les critères bactériologiques permettant de déterminer l'origine d'une Tiac sont d'autant plus puissants que le même agent pathogène ou la même toxine sont détectés chez les patients et dans l'aliment suspect *(tableau 3)*.

L'identification de l'agent infectieux est plus ou moins facile suivant le germe en cause. La connaissance de l'aliment vecteur permet d'orienter le diagnostic bactériologique *(tableau 4)*. Recherchées de façon systématique dans tous les protocoles de coproculture, les salmonelles sont facilement détectées et identifiées, d'où une certaine surestimation par rapport à d'autres entéropathogènes de détermination plus délicate. En contrepartie, le rôle des différents pathotypes d'*E. coli* ou des toxines bactériennes préformées est largement sous-estimé.

Tableau 3. Critères microbiologiques d'imputabilité.	
Critères	Valeur
Isolement du même agent pathogène chez différents malades	++
Isolement du même agent pathogène chez les malades et dans l'aliment suspect	+++
Isolement d'une quantité-seuil d'agent pathogène dans l'aliment suspect	+
Détection d'une toxine produite par l'agent pathogène chez les malades	++
Détection d'une toxine produite par l'agent pathogène dans l'aliment suspect	+

Tableau 4. Aliments vecteurs et doses minimales infectantes (DMI) des principaux agents de toxi-infections alimentaires.

Genre et espèce	Aliments	DMI
Salmonella enterica	Viandes, œufs	10 à 10^6/g
Staphylococcus aureus	Préparations cuisinées	10^5/g
Clostridium perfringens	Viandes	10^5/g
Listeria monocytogenes	Fromages, charcuteries	10^5 à 10^6/g
Bacillus cereus	Riz, légumes, viandes	10^5/g
Escherichia coli O:157	Viandes, lait cru	< 10/g
Shigella spp.	Eau et divers aliments	< 10/g
Campylobacter jejuni	Eau, volailles	10^4 à 10^5/g
Yersinia enterocolitica	Viandes (porc, volailles)	?

4.4. Enquête alimentaire

L'enquête de cas–témoin *(tableau 5)* est le seul moyen d'identifier rapidement l'aliment responsable de la Tiac. Elle doit être mise en œuvre systématiquement lorsque l'accident survient dans la communauté (quartier, ville, région), ou dans une collectivité.

La fiche individuelle utilisée pour l'enquête clinique sert également à relever les lieux des repas pris dans les 72 h précédant le début des symptômes, et la nature des aliments consommés. La qualité des résultats dépend de l'exactitude et de la précision des réponses. C'est pourquoi le questionnaire doit être administré précocement, afin de limiter autant que possible confusions et oublis.

Il faut interroger un nombre équivalent de malades et de témoins. Cette exigence peut être difficile à satisfaire lorsque le taux d'attaque d'une Tiac dans une collectivité est très élevé (manque de témoins), ou très faible (manque de cas). Dans cette dernière éventualité, on peut recruter plusieurs témoins par cas, afin d'augmenter la puissance des tests statistiques. Le choix des témoins doit porter sur des individus non malades, ayant été exposés aux mêmes risques alimentaires que les personnes atteintes : convives d'un même repas, clients d'un même restaurant, ou d'un même supermarché, etc.

Tableau 5. Exploitation de l'enquête de cas–témoins.

1. Tableau de contingence

Malades	Ayant consommé l'aliment	
(Suivant la définition des cas)	oui	non
Oui	a	b
Non	c	d

2. Calcul des taux d'attaque spécifiques par aliment

Chez les exposés (ayant consommé)	a / a + c
Chez les non-exposés (n'ayant pas consommé)	b / b + d

La définition des cas doit être affinée sur des critères cliniques, spatiaux et temporels. On retiendra, par exemple, « tout cas de diarrhée avec douleurs abdominales survenu parmi les élèves du collège X entre le 15 et le 18 octobre inclus ». Les malades qui ne répondent pas strictement à la définition choisie doivent être exclus de l'analyse.

Celle-ci consiste en une comparaison, aliment par aliment, des taux d'attaque spécifiques chez les individus qui l'ont consommé, et chez ceux qui ne l'ont pas consommé *(tableau 4)*. Lorsqu'une différence significative est mise en évidence par le test du Chi^2, il faut calculer l'*odds ratio* (OR) et son intervalle de confiance (IC) à 95 % : l'OR le plus élevé, avec un IC excluant la valeur 1, désigne l'aliment ayant la plus forte probabilité d'être la source de contamination. D'autres tests statistiques peuvent être nécessaires, tels que les analyses multivariées (régression logistique conditionnelle) permettant d'analyser simultanément plusieurs facteurs de risque, et de s'affranchir des facteurs de confusion. Différents logiciels permettent de réaliser ces analyses en quelques minutes seulement.

À ce stade de l'investigation, l'expertise bactériologique des repas–témoins peut apporter la confirmation en identifiant l'agent pathogène ou sa toxine dans l'aliment suspecté. Mais il ne faut pas en rester là et déterminer la source de cette contamination. Elle peut être d'origine et justifier des mesures correctives au stade de production : c'est en général le mécanisme en cause pour *Salmonella enteritidis* (œufs, volailles), *Clostridium perfringens* (viande de boucherie), ou *Bacillus cereus* (fruits, légumes). La contamination peut aussi être accidentelle, sur un maillon quelconque de la chaîne alimentaire : c'est l'hypothèse la plus probable en cas de Tiac à *Staphylococcus aureus*, à *Shigella* ou à *Streptococcus pyogenes*, bactéries d'origine humaine dont l'identification doit orienter les recherches vers l'existence d'un porteur de germes. Il faut y penser aussi avec les bactéries d'origine animale, comme *Salmonella enterica*, qui peuvent contaminer des instruments (hachoirs à viande, planches à découper), ou des surfaces de travail.

La dernière étape de l'enquête doit déterminer comment un inoculum infectieux, initialement minime, a pu engendrer une pullulation bactérienne dans

l'aliment, permettant de produire des quantités de toxine, ou d'atteindre un quantum infectieux suffisant pour déclencher la Tiac. Pour cela, il est nécessaire de reconstituer chaque étape de préparation de l'aliment en cause afin d'identifier toute rupture de liaison chaude ou de liaison froide, tout délai excessif précédant la consommation de l'aliment et toute faute de manipulation.

4.5. Déclaration

Les Tiac sont des affections à déclaration obligatoire (décret nº 86-770 du 10 juin 1986, *Journal Officiel* du 14 juin 1986) sous le nº 12. Au formulaire de déclaration, est joint un rapport d'investigation détaillé, au terme duquel le rédacteur effectue la synthèse des données, émet des hypothèses ou des certitudes quant à l'origine de la contamination, et décrit les mesures préventives mises en œuvre.
Beaucoup d'efforts restent à accomplir pour réduire le taux de sous-déclaration des Tiac, notamment en milieu familial, et pour appliquer de façon rigoureuse et systématique les recommandations spécifiques pour leur prévention en restauration collective.

5. Conclusion

Les Tiac sont des accidents fréquents dans les pays développés, redoutables par leurs conséquences sanitaires et économiques. Elles résultent généralement de deux mécanismes consécutifs : la contamination d'un aliment par des bactéries et leur pullulation aboutissant à l'élaboration d'une toxine ou à la constitution d'un inoculum infectieux. Ces deux événements sont rendus possibles grâce à des fautes d'hygiène commises au long de la chaîne alimentaire.
Tout épisode de Tiac nécessite une enquête pour identifier l'agent infectieux, l'aliment ayant servi de vecteur, le mode de contamination de l'aliment et les facteurs ayant favorisé la pullulation, afin de prendre des mesures efficaces pour prévenir les récidives. Cette enquête multidisciplinaire, à la fois clinique, microbiologique et alimentaire, peut être difficile, les Tiac n'étant pas toutes d'expression digestive, et l'agent responsable n'étant pas toujours une salmonelle. Il faut la mettre en œuvre le plus tôt possible.
Qu'elles surviennent en restauration collective ou en restauration familiale, la déclaration des Tiac aux Ddass ou aux DSV est obligatoire.

6. Pour en savoir plus

Boutin JP, Nizou JY, Teyssou R, Maillet JM, Krawiecki JM, Buisson Y. Toxi-infection alimentaire collective due à *Escherichia coli* entéropathogène O125 : H30. BEH 1997 ; 4 : 15-6.

Boutin JP, Puyhardy JM, Chianea D, et al. À propos d'une toxi-infection collective à l'histamine survenue à Brest. BEH 1997 ; 25 : 116-7.

Buisson Y, Descraques C, Schill H, Julien M, Antoine HM. Épidémie d'angines streptococciques d'origine alimentaire. BEH 1990 ; 31 : 134-5.

Haeghebaert S, Le Querrec F, Vaillant V, Delarocque-Astagneau E, Bouvet P. Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 1998. BEH 2001 ; 15 : 65-70.

Malinié F, Grivillers P, Bailly C, Ilef D. Toxi-infection alimentaire collective ou phénomène psychogénique ? BEH 2001 ; 7 : 29-31.

Talarmin A, Nicand E, Doucet M, Fermanian C, Buisson Y. Toxi-infection alimentaire collective à *Bacillus cereus*. BEH 1993 ; 33 : 154-5.

Prise en charge thérapeutique des diarrhées infectieuses aiguës

Jérôme Maslin



compensation oral, outre sa simplicité et son moindre coût, est qu'il n'existe aucun risque de surcharge. Fractionnés en petites quantités, jusqu'à 5 L peuvent être apportés quotidiennement chez l'adulte.

Contrairement à ce qui est souvent écrit, la réhydratation par voie orale doit toujours être tentée dans un premier temps, même en présence de vomissements, car ils cèdent le plus souvent après absorption de solutés. On arrête 10 min après chaque vomissement et on reprend plus lentement.

À ce stade, la surveillance de la réhydratation passe par l'amélioration des signes cliniques et la reprise du poids. On ne doit pas s'attendre à observer de diminution de la diarrhée (en volume ou durée), mais on peut juger de la bonne adaptation « apport/pertes », par l'obtention d'urines diluées (claires) toutes les 4 h.

1.1.1.1. Solutions de réhydratation orale

On dispose de solutions de réhydratation orale (SRO), distribuées par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'Unicef, sous forme de sachets à diluer dans 1 L d'eau potable. Ils contiennent environ 60 mEq/L de sodium. À défaut, on prépare des solutions de remplacement, à condition d'avoir une pharmacie sommaire, sinon on opte pour la solution « maison », à base de produits pris « à la cuisine » *(tableau 1)*. Si l'on n'est pas sûr de la provenance de l'eau, il est préférable de la faire bouillir et refroidir juste avant emploi. L'important est de bien respecter les quantités relatives de glucose et de sodium, gage d'une réabsorption efficace.

La posologie est simple, il faut administrer une quantité équivalente aux pertes. Il ne faut pas mélanger la SRO à une autre boisson car l'équilibre hydro-électrolytique serait rompu. En cas de diarrhée banale avec peu ou pas de signes de déshydratation, on préconise l'absorption à volonté de SRO. En cas de déshydratation modérée, on établit un programme de réhydratation orale en se fondant sur une absorption de 80 mL/kg sur les 4 premières heures, à adapter ensuite selon l'état clinique. Cela nécessite une surveillance du malade, la mesure du poids et l'appréciation du volume des excreta.

1.1.1.2. Cas particulier du voyageur isolé

Il doit être sensibilisé à ce traitement avant de partir. C'est, entre autres, le rôle des consultations de médecine des voyages, réalisées par des médecins (biologistes, épidémiologistes ou infectiologues). Un apport hydrique avec une quantité de sels suffisante est nécessaire, sans forcément recourir aux solutés de l'OMS.

Tableau 1. Les solutions de réhydratation orale.

Type OMS / Unicef / PCA	SRO de remplacement	SRO maison
Présentation en sachets : Glucose = 20 g NaCl = 3,5 g KCl = 1,5 g Citrate trisodique = 2,9 g À dissoudre dans 1 L d'eau potable	Glucose = 100 mL de glucose à 20 %, ou 67 mL de glucose à 30 %, ou 40 g de sucre NaCl = 3,5 g de sel de table Bicarbonate de soude = 2,5 g KCl = 1 ampoule de 10 mL à 15 % Compléter à 1 L avec de l'eau potable	Sucre en poudre = 5 cuillères à soupe Sel de table = 1 cuillerée à café Jus de 2 oranges ou de 2 pamplemousses Dans 1 L d'eau potable

à 10 % du poids du corps. Elle doit être associée à une alimentation (suivant le nouveau concept de nutrition en période diarrhéique). C'est une donnée particulièrement importante, surtout avant 3 mois, pour éviter une dénutrition qui pourrait prolonger la diarrhée.

Les SRO, telles que celles distribuées par l'Unicef, sont ici bien adaptées. Chez le petit nourrisson ou en cas de malnutrition associée, on recommande de diluer le soluté dans un volume double d'eau en ajoutant glucose, potassium et zinc. D'autres solutions sont bien adaptées à la pédiatrie : GES 45®, Adiaryl®, Gallialyte®, Allhydrate®.

Une solution acceptable et facile à préparer, est un mélange de 500 mL de soda (type « Coca Cola® »), avec 500 mL d'eau potable, 1/2 cuillérée à café de sel de table et 1 cuillérée à café de jus de citron. Ces solutions doivent être toujours utilisées fractionnées en petites quantités (biberons), en laissant l'enfant boire à volonté et à des intervalles réguliers *(tableau 3)*. Il est conseillé d'arrêter l'alimentation lactée pendant 48 h, et de la réintroduire sur 3 j suivant la tolérance de l'enfant.

1.1.3.2. Réhydratation parentérale

Elle est réservée aux formes graves avec déshydratation supérieure à 10 % du poids corporel. Comme chez l'adulte, elle est prescrite d'emblée en cas de vomissements incoercibles empêchant toute prise. On l'accompagne, dans la mesure du possible, d'une réhydratation par voie orale.

On doit commencer par une perfusion de macromolécules en cas de collapsus. L'acidose ne doit être corrigée que si elle est sévère (pH < 7,2). Puis, la perfusion d'hydroélectrolytes est guidée par les résultats des analyses biochimiques (natrémie, kaliémie). On utilise le plus souvent un sérum glucosé

Tableau 3. Techniques de réhydratation chez l'enfant.

Voie orale : perte pondérale < 10 %	Voie parentérale : signes de gravité, perte de poids ≥ 10 %, vomissements incoercibles
SRO–Unicef (à diluer chez l'enfant < 3 mois), GES 45®, Adiaryl®, Gallialyte®, Allhydrate® Biberon : à volonté (< 50 mL) toutes les 15 à 30 min Sonde nasogastrique : 30 à 50 mL toutes les 15 à 30 min (50 à 100 mL/kg en 6 h, puis 100 mL/kg le reste des 24 h) ; à n'utiliser que si pas de possibilité de perfusion et prise orale inefficace Arrêt du lait pendant 48 h, puis reprise progressive sur 3 j Régime antidiarrhéique (carotte, riz, viande, pomme, coing, banane)	Perfusion de base : SG 5 % + NaCl à 10 % (2 à 4 g/L) + KCl à 15 % (1,5 g/L) + gluconate de Ca (1,5 g/L) Posologie = 150 ml/kg/j • Si collapsus : macromolécule (Plasmion 20 mL/kg en 1/2 h ou albumine 2g/kg en 1/2 h) • Si acidose : bicarbonate 1,4 % à perfuser 20 min après les macromolécules. Quantité à apporter en mmol = (réserve alcaline normale–réserve alcaline de l'enfant) x poids x 0,3 • Si hyponatrémie (< 120 mmol/L) NaCl hypertonique (quantité à apporter en meq Na+ en 15 min = 10 x 0,6 x poids) • Si hypernatrémie (> 160 mmol/L) : correction très progressive Relais oral en 24 à 48 h, puis reprise progressive du lait sur 3 j

additionné d'électrolytes. Dans tous les cas, l'objectif est le rétablissement d'une hémodynamique et une reprise de la diurèse. Dès que l'état de l'enfant le permet, on effectue un relais oral et une réintroduction du lait sur quelques jours *(tableau 3)*.

1.2. Alimentation

1.2.1. Chez l'adulte

Contrairement à une idée reçue, il n'est pas souhaitable d'arrêter toute forme d'alimentation en cas de diarrhée. Mais cette attitude est parfois dictée par l'intolérance alimentaire ressentie par le malade. L'alimentation est légère, à base de riz, purée de carottes, fruits ou légumes frais ou bouillis (outre-mer : bien les laver et les éplucher), viande. Sous les tropiques, il est capital de faire participer la famille après une éducation, pour éviter l'emploi d'une alimentation trop agressive (épices, alcool).

1.2.2. Chez l'enfant

L'alimentation doit être précoce, après quelques heures de réhydratation. Quel que soit l'âge, il n'y a pas lieu d'arrêter l'allaitement maternel qui a des effets bénéfiques sur la réduction et la gravité de la diarrhée, et dont l'arrêt multiplie le risque de déshydratation par 3 à 5. Après 3 mois, le lait habituel 1er ou 2e âge peut être réutilisé. En l'absence d'allaitement, on a recours à des substituts de lait qu'il n'est pas nécessaire de diluer *(tableau 4)*. On poursuit l'utilisation du substitut de lait pendant 4 semaines afin de diminuer le risque d'apparition d'une allergie au lait de vache. Les laits sans lactose sont

Tableau 4. Alimentation de l'enfant diarrhéique.

Allaitement maternel	Ne pas l'arrêter quel que soit l'âge < 3 mois : après les premières heures de réhydratation exclusive
Substituts du lait	Outre-mer ou situation précaire : lait caillé, soja, yaourts Dans les pays industrialisés : **Hydrolysats de protéine de lait de vache (ne pas rediluer)** : Alfaré® (Nestlé) Peptijunior® (Nutricia) Galliagène® (Gallia) Nutramigen® (Mead and Johnson) Presgétimil® (Mead and Johnson) **Laits sans lactose** AL 110® (Nestlé) Giorgal® (Gallia) HN RL® (Milupa) Olac® (Mead and Johnson)
Autres aliments	De 3 à 6 mois : bouillie légère avec lait ou pâte d'arachide et fruits écrasés De 6 à 10 mois : bouillie plus épaisse avec viande mixée, fruits ou céréales Recette de la bouillie de riz : faire cuire 60 g de riz sans saler dans 1 L d'eau – Mixer le riz et ajouter 1/2 cuillérée à café de sel de table (NaCl) et 1 cuillerée à café de jus de citron (K^+)

souvent utilisés en cas de diarrhée persistante, bien que leur goût déplaise à beaucoup d'enfants et que l'OMS les considère comme chers et inutiles.

Si l'enfant avait une alimentation diversifiée, on utilise surtout des apports à base de riz, en limitant les fibres (crudités) et les graisses cuites.

1.3. Erreurs à éviter

L'existence de vomissements (sauf s'ils sont massifs et incoercibles) ne doit pas faire arrêter une réhydratation orale.

Chez l'enfant, rien ne justifie d'arrêter l'allaitement maternel.

Les boissons trop sucrées sont mal adaptées chez l'enfant car elles ont une trop faible teneur en NaCl, et une trop forte osmolarité (risque d'aggravation).

Ne pas mélanger SRO à d'autres boissons, car elle perd son efficacité.

La sonde nasogastrique chez l'enfant ne doit être utilisée que contraint et forcé, et jamais de manière prolongée.

L'utilisation exclusive de la soupe de carotte apporte peu d'électrolytes et risque de masquer la diarrhée par son pouvoir absorbant.

L'arrêt total du lait de vache en cas de diarrhée aiguë est actuellement remis en cause (risque de sensibilité et de malabsorption), et le rapport inconvénients/efficacité doit être pesé en tenant compte des ressources locales.

2. Traitements adjuvants

Nous classerons les traitements adjuvants de manière arbitraire : antisécrétoires, ralentisseurs du transit, adsorbants et antispasmodiques. En règle générale, leur utilisation doit être très prudente, la diarrhée étant un mécanisme protecteur d'élimination microbienne. L'utilisation de médicaments adjuvants peut s'avérer dangereuse en favorisant l'apparition d'un mégacôlon toxique, par « pullulation de stase », en cas de diarrhée invasive. Cependant, ces traitements peuvent améliorer le confort du malade en réduisant les douleurs spasmodiques et en diminuant la fréquence des selles.

Leur prescription doit être médicale et leur éventuelle utilisation entourée de conseils. On peut, très schématiquement, dégager deux indications majeures :

– amélioration du confort par les ralentisseurs du transit et les antisécrétoires ;

– diminution des séquelles et reprise plus facile du transit après l'épisode de diarrhée aiguë par les protecteurs de la muqueuse intestinale.

2.1. Médicaments antisécrétoires

Les médicaments antisécrétoires sont résumés dans le *tableau 5*. Précisons que le racécatodril, inhibiteur de l'enképhalinase, est efficace chez l'enfant, mais ne possède pas l'autorisation de mise sur le marché (AMM), et sa tolérance mérite d'autres évaluations.

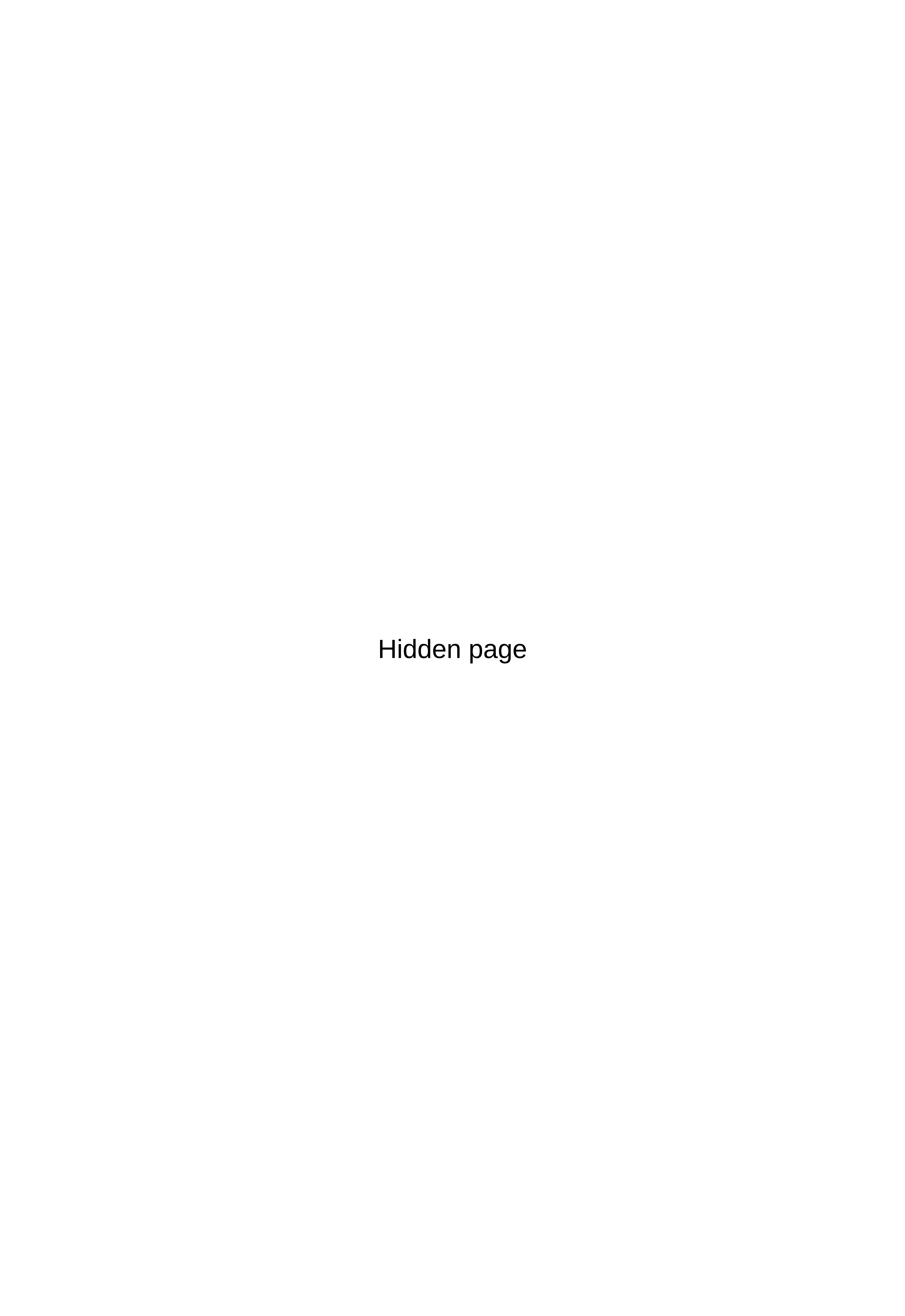

Hidden page

Tableau 7. Médicaments adsorbants.		
Nom de la spécialité et présentation	Qualités, indications et précautions d'emploi	Posologie
Attapulgite (Actapulgite®) Poudre en sachets : 3 g/sachet	Pansement intestinal, adsorbe les toxines et gaz, hémostatique et radiotransparent Précautions d'emploi : teneur en sucre (diabète), administration d'autres médicaments à distance	Adulte : 2 à 3 sachets/j à dissoudre dans l'eau, avant les repas Enfant : < 10 kg = 1 sachet/j > 10 kg = 2 sachets/j
Diosmectite (Smecta®) Poudre en sachets : 3 g/sachet	Pansement intestinal augmentant le pouvoir protecteur du gel muqueux adhérent, radiotransparent Précautions d'emploi : administration d'autres médicaments à distance	Adulte : 3 sachets/j à distance des repas, à délayer dans un 1/2 verre d'eau Posologie pouvant être doublée en début de traitement Enfants : Possibilité de diluer dans un biberon ou une bouillie < 1 an = 1 sachet/j 1 à 2 ans = 2 sachets/j > 2 ans = 2 à 3 sachets/j

(tableau 7). L'OMS ne les recommande pas, mais en pratique, ils sont souvent utilisés, car ils améliorent le confort des enfants. Des études récentes contre placebos constatent qu'ils réduisent le nombre de selles et la durée de la diarrhée, sans diminuer la perte hydro-électrolytique. Dans cette classe thérapeutique, les sels de bismuth ont fait preuve d'efficacité, mais ils ne sont plus disponibles en France. La colestyramine aurait un effet limité aux diarrhées dues à *Clostridium difficile*. Ces médicaments sont uniquement symptomatiques et leur usage ne doit pas retarder la réhydratation.

2.4. Médicaments antispasmodiques

Ce sont également des médicaments de confort, mais dont certains (anti-émétiques) s'avèrent particulièrement utiles lors de vomissements pouvant gêner la réhydratation orale. Il existe de nombreuses préparations dont deux sont fréquemment utilisées *(tableau 8)*.

3. Traitements anti-infectieux

3.1. Généralités

• Hormis les diarrhées d'origine parasitaire, il n'existe aucun consensus sur un traitement anti-infectieux (antiseptique ou antibiotique) de première intention dans les diarrhées aiguës *(tableau 9)*. L'idéal serait de pouvoir différencier les patients présentant des diarrhées bactériennes invasives sur des critères

Tableau 9. Antiseptiques intestinaux.

Nom de la spécialité et présentation	Qualités, indications et précautions d'emploi	Posologie
Intétrix® (1 : tiliquinol ; 2 : tilbroquinol) Gélules : 1 : 100 mg 2 : 200 mg Granulés : (enfant)	Antiseptique à large spectre et amœbicide de contact (en complément d'un amœbicide tissulaire) Contre-indications : pas de traitement continu, ne pas utiliser associé à d'autres médicaments à base de quinoléine, ne pas utiliser en cas de phénomène invasif	Adulte : 4 à 6 gélules/j Enfant : 2 à 3 mesures/5 kg/j (en 3 prises)
Ercéfuril® (nifuroxazide) Gélules à 100 ou 200 mg Solution buvable : 220 mg/mesure	Antibactérien intestinal à activité intraluminale Contre-indications : pas de traitement continu, contre-indiqué si grossesse, enfant < 1 mois et prématuré, et allergie aux dérivés nitrofuranes, ne pas utiliser si phénomène invasif	Adulte : 4 gélules/j (en 4 prises) *Enfants :* < 30 mois = 1 à 3 mesures/j > 30 mois = 3 mesures/j
Humagel® (enfants nourrissons) (paromomycine) Granulés à 250 mg/sachets ou 50 mg par cuillère à café	Aminoside à activité antibactérienne et antiparasitaire de contact Contre-indications : pas de traitement > 4 j, contre-indiqué chez enfant < 1 mois et prématuré, ne pas utiliser si phénomène invasif et en cas d'allergie aux aminosides	Enfants : 1 sachet/5 kg/j à diluer dans l'eau ou un aliment *Nourrisson :* 1 cuillère à café/kg/j

– épidémiologique : induction de résistances souvent transmissibles, notamment plasmidiques, et pouvant inférer des risques de rechutes pour les salmonelloses, et l'apparition d'épidémies de diarrhées à bactéries multirésistantes aux antibiotiques.

• Mais les avantages d'un traitement anti-infectieux sont certains, en diminuant la durée de la maladie (choléra, shigelles et ECET), ainsi que sur des terrains dénutris, débilités, ou chez la personne âgée particulièrement sensible à la déshydratation. Des complications graves liées à une bactériémie peuvent être évitées. Enfin, leur utilité est reconnue dans le traitement de la diarrhée du voyageur.

3.2. Indications

Les difficultés viennent le plus souvent de l'incertitude du clinicien face à l'étiologie exacte de la diarrhée. Le choix d'une antibiothérapie de première intention présomptive se fait devant certains tableaux cliniques : suspicion de fièvre typhoïde, dysenteries avec selles glairosanglantes, forme sévère de choléra, diarrhée avec signes généraux graves ou diarrhée traînante après résultats microbiologiques, signes extradigestifs associés (otite, angine, infection urinaire). Le terrain est aussi à prendre en compte (malade débilité nécessitant parfois une antibiothérapie parentérale, sida, état nutritionnel, enfant), ainsi

que l'aspect épidémiologique (cas identiques au sein d'une collectivité–suspicion d'épidémie).

Enfin, prescrire une antibiothérapie n'est pas tout et, en particulier outre-mer, son coût, son accessibilité et la compliance des malades sont souvent les seuls éléments décisionnels.

3.2.1. Antiseptiques intestinaux

Les antiseptiques intestinaux *(tableau 9)* ne sont pas absorbés par la muqueuse et sont de simples désinfectants locaux dont l'efficacité reste modeste. Cependant, un risque de passage systémique est possible en cas de muqueuse lésée, avec les risques d'intoxication que cela comporte.

3.2.2. Antibiotiques *(tableau 10)*

La durée d'un traitement antibiotique en cas de diarrhée doit être limitée à 7 j au maximum. Le plus souvent, un traitement d'une durée de 3 j par une fluoroquinolone est aussi efficace qu'un traitement plus long, et permet de diminuer la fréquence des effets secondaires (l'efficacité d'un traitement monodose est à confirmer). Des résistances aux fluoroquinolones ont été décrites pour certains isolats d'ECET et de *Shigella*, mais la grande majorité des souches bactériennes à l'origine de diarrhée sont encore sensibles. Les résistances à l'amoxicilline et au cotrimoxazole sont devenues un réel obstacle à leur utilisation dans de nombreux pays. Par ailleurs, des résistances aux cyclines apparaissent également. Le plus souvent, il faut effectuer un traitement présomptif, en tenant compte des résistances naturelles des agents pathogènes suspectés, de l'écologie bactérienne et des conditions économiques locales. Le choix sera ainsi moins arbitraire mais forcément limité à quelques spécialités.

3.2.3. Antiparasitaires et anti-anaérobies

Les conditions d'utilisation, les avantages et les inconvénients de ces différents produits sont résumés dans le *tableau 11*.

4. Autres traitements

Certains auteurs ont pensé à mettre à profit la compétition de l'écosystème intestinal en implantant une flore commensale (*Enterococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae*), pour s'opposer à une colonisation par des pathogènes (rôle de barrière) et limiter les risques de malabsorption (en métabolisant le lactose). Aucune efficacité réelle n'a pour l'instant été montrée. Les ferments lactiques (*Lactobacillus casei*), par un mécanisme associant la réduction de l'adhésion des bactéries invasives et la sécrétion d'une substance antimicrobienne, permettraient un retour plus rapide à des selles normales chez l'enfant. Pris régulièrement dans l'alimentation en région d'endémie, ils auraient un effet préventif sur les diarrhées. Tout en stimulant le système immunitaire, ils sont parfaitement tolérés. L'immunothérapie (administration orale d'immunoglobulines purifiées) est une voie de recherche.

Tableau 10. Antibiotiques à visée intestinale.

Nom de la spécialité et présentation	Qualités, Indications et précautions d'emploi	Posologie
Amoxicilline (Clamoxyl®) Voie orale : Comprimés/gélules à 250/500 mg Sirop à 125, 250 et 500 mg/mesure Comprimés dispersibles à 1 g Voie parentérale : IM : flacons à 500 mg, 1g IV : flacon à 500 mg, 1g, 2g	Antibiotique à résorbtion digestive complète, supérieure aux ampicillines par voie orale. Diarrhée du voyageur Allergies possibles, rash cutané avec infections virales (EBV), posologie à adapter en cas d'insuffisance rénale	Adulte : 1g/j, posologie pouvant être doublée Enfant : < 30 mois = 25 à 35 $mg{\cdot}kg^{-1}{\cdot}j^{-1}$ > 30 mois = 35 à 50 $mg{\cdot}kg^{-1}{\cdot}j^{-1}$ posologie pouvant être augmentée
1 : Sulfaméthoxazole ; 2 : Triméthoprime (Bactrim® Roche) Comprimés : 1 : 400 mg ; 2 : 80 mg Suspension buvable/mesure : 1 : 200 mg ; 2 : 40 mg Perfusions : Ampoules 5 ml : 1 : 400 mg ; 2 : 80 mg	Association sulfamidée à absorption digestive rapide, bactériostatique, diarrhée du voyageur et diarrhées sévères aiguës non invasives Contre-indications : grossesse, allaitement, nouveau-né, allergie, déficit en G6PD. Risques d'effets indésirables : épidermolyse, toxicité rénale, hématologique, interactions médicamenteuses	Adulte : 2 comprimés matin et soir Enfants : 6 mois à 5 ans = 2 mesures/j 6 à 12 ans = 4 mesures/j
Ciprofloxacine (Ciflox®) Comprimés à 250, 500, 750 mg Perfusions : Flacon de 200 mg (100 ml)	Fluoroquinolone systémique à effet bactéricide rapide et action postantibiotique prolongée. Indiqué pour salmonelloses, shigelloses Contre-indications : enfant < 15 ans, allergie, grossesse, allaitement, déficit en G6PD Risques de photosensibilisation, tendinopathies, céphalées	500 mg 2/j à absorber matin et soir au milieu des repas Perfusions IV de 30 min 200 mg 2/j
Azithromycine (Zithromax®) Gélules à 250 mg	Nouveau macrolide ayant une activité sur *Campylobacter* et *Shigella* Bien toléré sauf réaction allergique et en cas d'association à l'ergotamine ; parfois nausées, éruptions cutanées, hépatites	Adulte : 500 mg (2 gélules/j)

Des études ont également montré l'intérêt de la vitamine A ou de sels de zinc, qui diminueraient la gravité et la durée de certaines diarrhées.

5. Diarrhées et collectivité

Certaines affections (choléra, fièvre typhoïde) font l'objet d'une déclaration obligatoire. De même, tout risque épidémique doit faire l'objet d'une déclaration aux systèmes de surveillance épidémiologiques locaux.

Tableau 11. Antiparasitaires et anaérobies.

Nom de la spécialité et présentation	Qualités, indications et précautions d'emploi	Posologie
Métronidazole (Flagyl®) Comprimés à 250 et 500 mg Suspension à 125 mg/mesure Perfusions : Flacons de 100 mL = 500 mg	Anti-infectieux nitro-imidazolé actif contre les bactéries anaérobies (colite pseudo-membraneuse à *Clostridium difficile*) et certains parasites (*Giardia, Entamoeba histolytica*) La seule contre-indication est l'allergie, éviter au 1er trimestre de grossesse, effets indésirables rares, effet antabuse	Infections à anaérobies : 25 à 30 $mg{\cdot}kg^{-1}{\cdot}j^{-1}$ en 2 fois (adulte et enfant) Colite pseudo membraneuse : 250 mg (per os) 4/j/10j Parasitoses : Adulte : 1,5 à 2 g/j/7j Enfant : 30 $mg{\cdot}kg^{-1}{\cdot}j^{-1}$

6. Conclusion

La réhydratation reste encore le fondement de la prise en charge des diarrhées infectieuses. Sa mise en œuvre ne se restreint pas aux zones tropicales. Les traitements adjuvants apportant plus de confort au malade sont bien tolérés dans l'ensemble mais, bien que d'usage courant, leur utilisation doit obéir à certaines règles (à éviter dans les syndromes dysentériques). La prescription d'anti-infectieux devrait idéalement suivre la coproculture qui permet le plus souvent de préciser l'étiologie de la diarrhée, déjà suspectée par l'aspect clinique et les circonstances épidémiologiques. La prescription d'antibiotiques doit se faire de manière précise, mais son apport est indéniable pour certaines indications (fièvre typhoïde, diarrhées à *Campylobacter*).

L'utilisation de vaccins antidiarrhéiques polyvalents n'étant pas encore prévue, c'est par une prise en charge thérapeutique rigoureuse et hiérarchisée, dans un souci à la fois d'efficacité et d'économie de la santé, que l'on diminuera l'effroyable mortalité des diarrhées dans le monde.

7. Pour en savoir plus

Ashenazi S. Antibiotic treatment of bacterial gastroenteritis. P Inf Dis 1991 ; 10 : 140-8.

Gendel D. Traitement des diarrhées aiguës. Méd Thér Péd 1998 ; 1 : 43-8.

Carré D, Chapalain JC, Debonne JM, Klotz F. Diarrhées aiguës infectieuses. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris). Maladies Infectieuses 2000 ; 16 p.

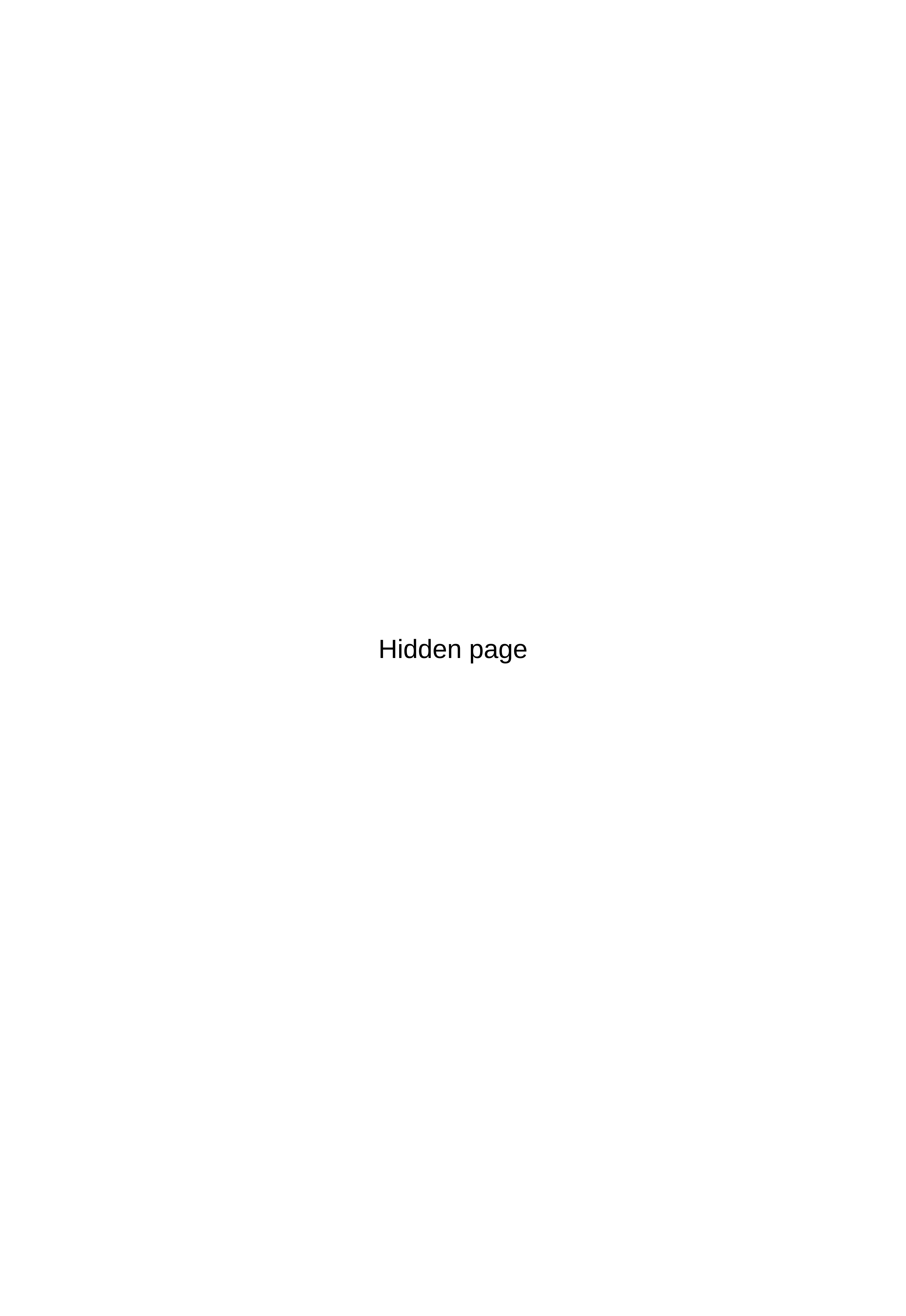
Organisation mondiale de la santé. Usage rationnel des médicaments dans le traitement des diarrhées aiguës de l'enfant. Genève : OMS Ed ; 1992 : vol 1.

Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille / Site du service des maladies infectieuses et tropicales : mit.ap.hm.fr

Guide clinique meditravel : edisan.timone.univ.mrs.fr

Laboratoires Servier : info@laconferencehippocrate.fr

wbm@esculape.com


Hidden page

Diarrhées infectieuses aiguës

Coordinateur

Rémy Teyssou

Collection dirigée par

Jean-Claude Nicolas

Les diarrhées infectieuses aiguës forment un ensemble nosologique extrêmement complexe et hétérogène. La frontière entre les différents syndromes observés ou entre les mécanismes physiopathologiques décrits n'est pas toujours nette. Cependant la distinction entre diarrhée hydrique, gastroentérite fébrile et syndrome dysentérique reste indispensable pour guider la prise en charge diagnostique et thérapeutique du patient.

Réalisé par des médecins biologistes et des cliniciens, cet ouvrage illustré de nombreux tableaux et schémas fait le point des données les plus récentes sur le sujet. Physiopathologie, épidémiologie, aspects cliniques et thérapeutiques y sont développés en fonction des agents pathogènes, mais aussi présentés sous forme de synthèse.

Ce livre s'adresse aux étudiants en médecine ou en pharmacie, médecins praticiens et infectiologues, microbiologistes et épidémiologistes, tous acteurs d'une approche globale ou spécialisée des diarrhées infectieuses aiguës.

Les auteurs

Antoine Andremont
Frédéric Barbut
Fabienne Bon
Yves Buisson
Dominique Gendrel
Marc Grandadam
Karine Grenet
Alexandra Kerleguer
Jean-Louis Koeck
Évelyne Kohli
Philippe Lehours
Jérôme Maslin
Francis Mégraud
Marc Morillon
Florence Moulin
Élisabeth Nicand
Jacques-Yves Nizou
Jean-Claude Petit
Pierre Pothier
Rémy Teyssou

ISBN : 2-84299-336-5
ISSN : 1631-3623
37 €
DIA

